

CHEMOTAXONOMISCHE UNTERSUCHUNGEN AN EINIGEN VITICOIDEAE (VERBENACEEN)

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
des Fachbereichs Pharmazie
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Bernhard Neumann
aus Berlin

Berlin 1976

CHEMOTAXONOMISCHE UNTERSUCHUNGEN AN EINIGEN VITICOIDEAE (VERBENACEEN)

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
des Fachbereichs Pharmazie
der Freien Universität Berlin



vorgelegt von
Bernhard Neumann
aus Berlin

Berlin 1976

Referent: Prof. Dr. H. Rimpler
Korreferent: Prof. Dr. K. Rehse

Tag der mündlichen Prüfung: 1.6.1976

Druck: Zentrale Universitätsdruckerei, V a A 4



Meinen Eltern gewidmet

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für Pharmakognosie und Phytochemie der Freien Universität Berlin unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Horst Rimpler durchgeführt. Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. H. Rimpler für das Überlassen des Themas der vorliegenden Arbeit, das Beschaffen der Droge und für seine wohlwollende und wertvolle Betreuung während der Zeit, in der ich mich mit dieser Arbeit befaßte.

Ich danke Herrn Prof. Dr. R. Hänsel, Ordinarius am Institut für Pharmakognosie und Phytochemie der Freien Universität Berlin für seine fördernde Unterstützung zum Gelingen dieser Arbeit.

Ich möchte nicht zuletzt auch allen Mitarbeitern für die bereitwillige Erfüllung meiner Wünsche herzlich danken. Für die vielen praktischen Ratschläge während meiner Labortätigkeit danke ich Frau H. Pistor und für die Ausführung der Fotoarbeiten Herrn W. Bähr.

Für die Aufnahme der Gaschromatogramme, der Kernresonanz-, Infrarot- und Massenspektren möchte ich den Herren D. Grunow, G. Grelbig, K. Leitzow und J. Lindemann danken, alle beschäftigt am Pharmazeutischen Institut der Freien Universität Berlin. Für die Aufnahme der FT Protonenresonanzspektren gilt mein Dank Herrn Dr. K. Roth am Institut für Organische Chemie der Freien Universität Berlin.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

INHALTSVERZEICHNIS

	<u>Seite</u>
1. <u>EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG</u>	1
2. <u>LITERATURTEIL</u>	3
2.1 Taxonomie der Verbenaceen	3
2.2 Botanische Beschreibungen der Gattungen Holmskioldia, Premna und Gmelina	6
2.3 Anatomische Beschreibung von Holmskioldia sanguinea Retz.	10
2.4 Chemische Merkmale der Gruppe 790 nach EL GAZZAR und WATSON	14
2.5 Bisher durchgeführte Untersuchungen über Premna integrifolia L. und Gmelina arborea L.	28
3. <u>HAUPTTEIL</u>	31
3.1 Isolierung und Charakterisierung von Iridoidglykosiden	31
3.1.1 Iridoide aus Holmskioldia sanguinea Retz.	31
3.1.2 Iridoide aus Holmskioldia tettensis Klotz.	44
3.1.3 Iridoide aus Premna integrifolia L.	46
3.1.4 Versuch zum Nachweis von Iridoiden in Gmelina arborea L.	47
3.2 Isolierung und Identifizierung lipophiler Verbindungen aus Holmskioldia sanguinea Retz.	49
3.2.1 Sterole	49
3.2.2 Flavon	54
4. <u>EXPERIMENTELLER TEIL</u>	65
4.1 Allgemeine Angaben	65
4.2 Iridoide aus Holmskioldia sanguinea Retz.	68
4.2.1 Isolierung der Verbindungen Hosa III, Hosa II, Hosa I und Hosa o	68

	<u>Seite</u>
4.2.2 Eigenschaften der Verbindung Hosa II (Catalpol)	70
4.2.3 Acetylierung der Verbindung Hosa III (Catalpolhexaacetat)	71
4.2.4 IR Spektren der Verbindungen Hosa II, Hosa I, Hosa o	72
4.3 Iridoide aus <i>Premna integrifolia</i> I	74
4.3.1 Isolierung der Verbindungen Prem IV, Prem III, Prem II und Prem I	74
4.3.2 Eigenschaften der Verbindung Prem III (Catalpol)	74
4.3.3 IR Spektren der Verbindungen Prem IV, Prem II und Prem I	75
4.4 Iridoide aus <i>Holmskioldia tettensis</i> Klotz.	76
4.4.1 Isolierung und Acetylierung der Verbin- dungen Hote I (Harpagid) und Hote II (Acetylharpagid)	76
4.5 Chromatographische Untersuchung von <i>Gmelina arborea</i> L.	77
4.6 Steroide aus <i>Holmskioldia sanguinea</i> Retz.	77
4.6.1 Isolierung der Verbindung HSL II	77
4.6.2 Eigenschaften der Verbindung HSL II (Stigmasterol und β -Sitosterol)	78
4.7 Flavon aus <i>Holmskioldia sanguinea</i> Retz.	79
4.7.1 Isolierung der Verbindung HSL III	79
4.7.2 Eigenschaften der Verbindung HSL III (7-O-Methylnorwogonin)	79
4.7.3 Methylierung der Verbindung HSL III	81
4.7.4 Acetylierung der Verbindung HSL III (HSL III Ac I und HSL III Ac II)	83
4.7.5 Entmethylierung der Verbindung HSL III (Norwogonin)	85
5. <u>DISKUSSION</u>	86
6. <u>ZUSAMMENFASSUNG</u>	89
7. <u>LITERATURVERZEICHNIS</u>	90

EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

Von beinahe allen Pflanzensystematikern wird die enge Beziehung der Familien Verbenaceae und Lamiaceae zueinander betont. Obwohl BRIQUET (9) gewisse Zusammenhänge zwischen den Lamiaceen und Verbenaceen bemerkt, erfolgt doch innerhalb seines Pflanzensystems eine strenge Teilung in zwei Familien. Infolge mangelnder Erkenntnisse ist diese Trennung, die als unnatürlich empfunden wird, bis heute beibehalten worden. Vor einiger Zeit schlugen EL GAZZAR und WATSON (22) eine Neuordnung beider Familien vor. Die Grundlage dazu bildet eine statistisch-numerische Ähnlichkeitsbestimmung von 400 Arten aus den Familien der Verbenaceae und der Lamiaceae. Mit Hilfe von 46 Merkmalen ordnen sie die Pflanzen in fünf Gruppen phänetischer Ähnlichkeit, wobei diese infolge unterschiedlicher Pollenentwicklung in die Hauptgruppen A und B getrennt werden können. In der Hauptgruppe A sind alle Verbenaceen und ein großer Teil der Lamiaceen zusammengefaßt, während die Gruppe B ausschließlich Lamiaceen umfaßt (siehe Tab. 1).

Zur Abgrenzung der natürlichen Gruppen innerhalb des Pflanzenreiches werden heutzutage neben der Morphologie, Anatomie und Physiologie immer stärker chemische Merkmale herangezogen. Iridoide Pflanzeninhaltsstoffe werden zu diesen chemischen Merkmalen gezählt und u.a. von WINDE (88), HEGNAUER (31) und JENSEN (35) als wertvolles Hilfsmittel zur Klärung taxonomischer Fragen angesehen. Eine interessante Unterstützung erfährt die Neuordnung EL GAZZAR'S und WATSON'S durch neuere Untersuchungen KOOIMAN'S (40) über die Verbreitung von Iridoidglykosiden in Lamiaceen. Hierbei gehören sämtliche iridoidführende Arten ausschließlich der Hauptgruppe A an, während iridoidfreie Vertreter zur Gruppe B zu rechnen sind. Viele der Verbenaceen-Arten enthalten Iridoide. Probleme bestehen nun bei der Abgrenzung kleinerer Sippen (z.B. bei Unterfamilien und 'Triben') für die EL GAZZAR und WATSON zum Teil eine völlig neue Umgrenzung vorschlagen. Auffällig ist beispielsweise innerhalb der

Gruppe 79o die Einordnung der drei Verbenaceen-Gattungen *Holmskioldia*, *Premna* und *Gmelina*, die von dem übrigen Teil der Viticoideae abgetrennt und mit Vertretern der Lamiaceen zusammen eingeordnet werden.

In der vorliegenden Arbeit werden daher *Holmskioldia sanguinea* Retz. und *Holmskioldia tettensis* Klotz. sowie *Premna integrifolia* L. und *Gmelina arborea* L. auf Iridoid-glykoside untersucht. Von *Holmskioldia sanguinea* Retz. sollen zusätzlich auch die mengenmäßig vorherrschenden lipophilen Inhaltstoffe isoliert und identifiziert werden, da von dieser Art etwas mehr Material vorhanden ist. Im Anschluß daran sollen die Ergebnisse zeigen, ob die Iridoid-Akkumulation dieser Arten Argumente für oder gegen die Abtrennung der drei Gattungen von den übrigen Viticoideae liefert.

2. LITERATURTEIL

2.1. Taxonomie der Verbenaceae

Der ersten Monographie über die Verbenaceen von SCHAUER (71) entnahm BRIQUET (9) die Gliederung der Familie. Ihre systematische Einordnung wurde nach morphologischen Gesichtspunkten in 7 Unterfamilien mit 66 Gattungen vorgenommen. Der Bau der Blütenstände, die Ausbildung der Früchte, die Stellung der Samenanlagen sowie die Beschaffenheit des Samens galten hierbei als Unterscheidungsmerkmal. BRIQUET erkannte die enge Beziehung zwischen den Verbenaceen und den Lamiaceen. So bezeichnete er die Unterfamilien Prostantheroideae und Ajugoideae der Lamiaceae als verbenoid. Bei ihnen sitzt im Gegensatz zu den übrigen Familienmitgliedern der Griffel nicht zwischen den Fruchtblättern (gynobasisch), sondern ist am Drittel, an der Mitte oder am Viertel der Fruchtknotenhöhe inseriert. Damit zeigen sie eine starke Verwandtschaft zu den Verbenaceen, bei denen der Griffel entweder auf dem Scheitel des Fruchtknotens (terminal) zu finden ist oder eine Mittellage besitzt und als hemigynobasisch angesehen werden kann. Trotz dieser Auffälligkeiten behielt BRIQUET die künstliche Trennung in zwei Familien bei, die bis in jüngster Zeit von allen Systematikern übernommen wurde.

Der Bau des Gynäceums in beiden Familien wurde von SVEN JUNELL (37) näher untersucht. Abgesehen von der Neugliederung einiger Gattungen rechnet er nur noch die Verbenoideae nach BRIQUET zu den Verbenaceen. Sie haben einen racemösen Blütenstand und die Samenanlagen auf dem eigentlichen Fruchtblattrand sitzen. Alle übrigen Verbenaceen vereinigt er in einer zweiten Gruppe mit den Lamiaceen. Hier befinden sich Pflanzen mit cymösem Blütenstand und den Samenanlagen auf der Innenseite der Fruchtblätter befestigt.

Trotz dieser Forschungsergebnisse faßt MOLDENKE (49) in der jüngsten Monographie die Unterfamilien Verbenoideae, Viti-coideae und Caryopteroidae zu einer Familie zusammen, wobei AIRY SHAW (87) dem Beispiel folgt und noch die Nyctanthoideae

zu dieser Gruppe hinzufügt. Die Unterfamilien Stilboideae, Symphoremioideae und Avicenniioideae stellen dabei nach ihrer Meinung eine eigene Familie dar. Sie werden von MELCHIOR (48) infolge ihrer Ähnlichkeit im Bau der Ovarien erneut den Verbenaceen untergeordnet.

Wie eingangs erwähnt, erscheint der Vorschlag EL GAZZAR'S und WATSON'S (22) zu einer Neugliederung beider Familien für die vorliegende Arbeit von besonderem Interesse. Zur Aufteilung der Arten in die beiden Hauptgruppen A und B diente ihnen die Morphologie des Pollenkorns. Alle untersuchten Verbenaceen-Arten befinden sich ausnahmslos in der hier wiedergegebenen Hauptgruppe A (Tab. 1), ihre entsprechenden Gattungsnamen sind unterstrichen. Auffällig erscheint bei der Betrachtung, daß drei Gattungen der Unterfamilie der Viticoideae sensu BRIQUET von ihren übrigen Familienmitgliedern abgetrennt wurden. Die drei Gattungen Holmskioldia, Premna und Gmelina stehen nach EL GAZZAR und WATSON entwicklungsgeschichtlich gesehen auf gleicher Stufe mit den Ajugoideae, Prasieae und Melittae und sind in den 46 untersuchten Merkmalen fast nicht voneinander zu unterscheiden. Aus diesem Grunde wurden sie in der Gruppe 779 miteinander vereint. Der Hauptteil der Viticoideae ist in der Gruppe 782 zusammengefaßt. Er weist zwar viele Ähnlichkeiten zur Nachbargruppe 779 und den darin vertretenen Lamiaceen auf, wird aber entwicklungsgeschichtlich höher eingestuft.

Tab. 1: Aufstellung nach EL GAZZAR und WATSON

	Gruppe A
	Gruppe I - 783
Gruppe 700:	Prostanthera
Gruppe 757:	Hemigenia, Hemiantra, Westringia, Microcorys, <u>Stilbe</u> , <u>Campylostachys</u> , Pityrodia, <u>Newcastelia</u> , Lachnostachys
	Gruppe I - 790
Gruppe 779:	Ajuga, Amethystea, Teucrium, Leucosceptrum, Isanthus, Trichostema, Salazaria, Synandra, Melittis, Brazoria, Physostegia, Phyllostegia, Gomphostemma, Prasium, <u>Premna</u> , <u>Gmelina</u> , <u>Holmskioldia</u>
Gruppe 782:	<u>Clerodendrum</u> , <u>Caryopteris</u> , <u>Aegiphila</u> , <u>Calli-</u> <u>carpa</u> , <u>Vitex</u> , Amasonia
	Gruppe II - 745
Gruppe 745:	<u>Lippia</u> , <u>Lantana</u>
	Gruppe II - 784
Gruppe 743:	<u>Verbena</u> , <u>Priva</u>
Gruppe 742:	<u>Stachytarpheta</u> , <u>Bouchea</u> , <u>Citharexylum</u> , <u>Petrea</u>
	Gruppe III - 789
Gruppe 760:	Pogostemon, Dysophylla, Colebrookea
Gruppe 761:	Scutellaria, Achyrosperrum, Chamaesphacos
Gruppe 776:	Anisomeles, Leucas, Acrotome, Thuspeinanta, Marrubium, Sideritis, Comanthosphace, Rostrinucula
	Gruppe III - 786
Gruppe 769:	Eriophyton, Notochaete, Lagochilus, Eremostachys, Molucella, Wiedemannia, Leonurus, Lamium, Galeopsis, Betonica p.p., Stachys p.p.
Gruppe 775:	Ballota, Phlomis, Roylea, Otostegia, Leonotis, Colquhounia, Craniotome, Stachys p.p., Betonica p.p.
	Gruppe B usw.

2.2. Botanische Beschreibung der Gattungen Holmskioldia, Premna und Gmelina

Die neueste Monographie über die Familie der Verbenaceen von MELCHIOR (48) umfaßt ungefähr 2600 Arten mit etwa 100 Gattungen. Die botanische Beschreibung der wesentlichen morphologischen Merkmale sei auf die Viticoideae sensu BRIQUET, einer Unterfamilie der Verbenaceen, beschränkt. Die als Sträucher, Halbsträucher, auch als Bäume vorkommenden Pflanzen sind über die tropischen und subtropischen Gebiete verteilt. Ihre meist gegenständigen, mitunter zusammengesetzten Blätter sind ganzrandig oder gezähnt und werden von einer kahlen oder verschieden behaarten Epidermis begrenzt. Die zygomorphen Blüten sind zu einem cymösen Blütenstand vereinigt, wobei die Cymen oft zu Rispen, Dol-denrispen oder Trugdolden zusammengesetzt sind. Das Andröceum besteht aus vier fertilen Staubblättern, von denen zwei didynamisch ausgebildet sein können. Dabei können die beiden längeren Staubblätter aus der Kronenröhre herausragen. Das Gynäceum wird fast ausschließlich von 2 zweifächerigen Karpellen gebildet, wobei sich in jedem Fach eine Samenanlage befindet. Der oberständige Fruchtknoten hat einen terminalen Griffel. Innerhalb des Ovars werden die einsamigen Fächer durch falsche Scheidewände mehr oder weniger voneinander getrennt. Die Früchte zeichnen sich durch fleischiges oder saftiges Exokarp aus. In der Reifezeit zerfallen sie in 2 oder 4 Steinfrüchte (Klausen). Allen Viti-coideae ist neben ihrem cymösen Blütenstand gemeinsam, daß ihr Samen kein Nährgewebe hat.

Folgende Arten sind im Rahmen der vorliegenden Arbeit näher untersucht worden:

Holmskioldia sanguinea	Retz.	Ob.vi.31 und Hoffm.	Phyt.Blaett
Holmskioldia tettensis	Klotz.	Linnaea, 43, 536	35, t3
Premna integrifolia	L.	Mant. 252 (excl. syn. Burm.)	
Gmelina arborea	L.	Roxb. Cor. Pl. iii 41,	t 246

Holmskioldia

Die Gattung Holmskioldia (Hastingia Sm., Platanium Juss.) zählt nur 5 Arten, die im subtropischen Himalaya, auf Madagaskar und in Ostafrika als kahle oder weißlich behaarte Sträucher oder Halbsträucher beheimatet sind. Ihr ganzrandiger Kelch mit kurzer, die Frucht einschließender Röhre zeigt häufig eine lebhaftere Farbe. Die Blütenkrone mit gebogener Röhre ist 5 spaltig.

Holmskioldia sanguinea Retz. nun ist eine mit tief-rotem, adrig-nervigem Kelch versehene Zierpflanze, die im subtropischen Himalaya und in den Prome Bergen häufig ist. Holmskiold ist der Name eines Dänen, der es nach Meinung von RETZIUS aufgrund wertvoller botanischer Hinweise ermöglichte, die untersuchten Pflanzen zu einer eigenen Gattung 'Holmskioldia' zusammenzufassen (82). Die sich dicht über dem Erdboden ausbreitenden Zweige des kleinen, einstämmigen Strauches sind in der Lage, Wurzeln zu schlagen. Holmskioldia tettensis Klotz. (Cyclonema tettense Kl.) ist in Moçambique in der Gegend von Tette zum ersten Mal beobachtet worden (53, 84). Der verästelte Strauch trägt vierkantige, behaarte Zweige. Die gebogene Kronenröhre ist mit sehr kleinen Drüsen dicht besetzt. Der viereckige Fruchtknoten ist weißlich behaart.

Premna (Cornutioides L., Gumira Hassk., Baldingera Dennst., Holochiloma Höchst)

Die Gattung Premna umfaßt ungefähr 180 Arten. Die häufig behaarten oder filzigen Halbsträucher, Sträucher oder Bäume sind in tropischen Regionen verbreitet.

Im Gegensatz zur Gattung Holmskioldia ist der kleine Kelch 2 lappig abgestutzt oder 3-5 zählig ausgeschweift. Die Blütenkrone hingegen zeigt nur 4 schwach ausgebildete, ungleiche Lappen, wobei der vordere oft konkav verläuft. Die Blumenkronenröhre ist zylindrisch, gewöhnlich kurz und unterscheidet sich dadurch von den Gmelina-Arten.

Gmelina

Die Arten der Gattung *Gmelina* sind als hohe, kahle, filzige oder mit axillären Dornen versehene Sträucher oder Bäume im südöstlichen Asien, im malayischen Archipel und in den tropischen Teilen Australiens angesiedelt.

Ihre Blumenkronenröhre erfährt nach oben hin eine starke Erweiterung und wird von einem glockigen, 4-5 zähligen oder ausgeschweift gelappten Kelch umschlossen.

Gmelina arborea L. wächst in Vorderindien. Die Pflanze zeigt den Habitus eines Baumes mit breiten, auf der Unterseite filzig behaarten Blättern und gewöhnlich kurzem, astlosem Stamm. Sie erblüht im Februar in gelbfilziger Rispe. Ihr Holz ähnelt dem Teakholz und wird von den Bewohnern Indiens unter den Bezeichnungen Goomar Teak, Pedda Gomra, Gomaldi usw. als Nutzholz verwendet.

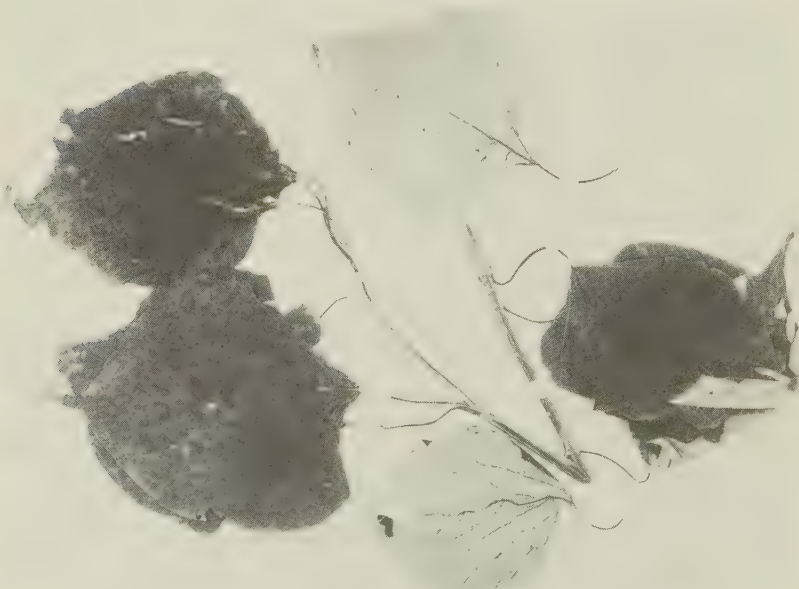


Abb. Oberirdische Pflanzenteile von *Gmelina arborea* L.

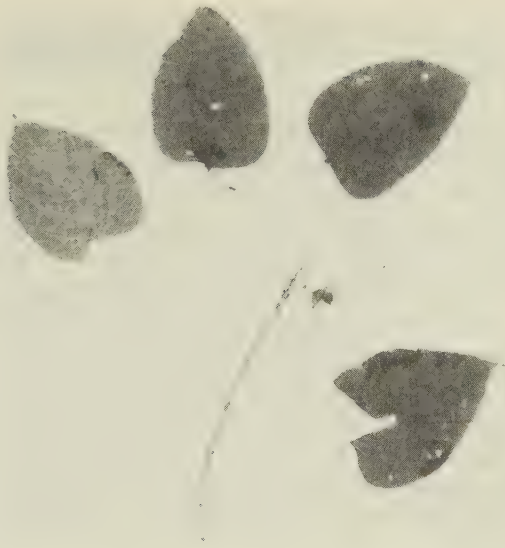


Abb.: Oberirdische Pflanzenteile von *Holmskioldia sanguinea* Retz.

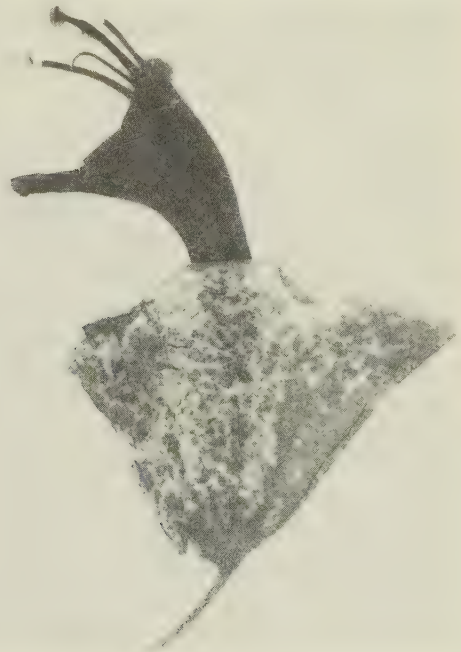


Abb.: Einzelblüte von *Holmskioldia sanguinea* Retz.

2.3. Anatomische Beschreibung von Holmskioldia sanguinea Retz.

Anatomische Beobachtungen über *Holmskioldia sanguinea* Retz. teilten SAYEEDUDDIN und MOINUDDIN (65) in einer Studie mit. Danach kommt Kalziumoxalat in Form prismatischer, stabartiger, einfacher oder zusammengesetzter Kristalle beinahe in allen Teilen der Pflanze vor. Deckhaare sind in zwei verschiedenen Formen anzutreffen, einmal mehrgliedrige, lange, häufig im rechten Winkel gebogene Haare (Abb. 1) und kurze, kegelförmige Haare (Abb. 2). Mit beiden Typen ist die Blattoberfläche dicht besetzt. Junge Stiele sind gleichfalls stark behaart und zeigen zudem noch mehrzellige Schleimhaare. Eine Hypodermis, wie MULLAN (51) sie bei *Clerodendrum*-Arten beschrieben hat, ist nicht vorhanden. Stärkekörner und Öltröpfchen sind im jungen Rindenparenchym gelagert (Abb. 3). An das Phellogen schließen sich kollenchymatische Zellreihen an. Im Perizykel kommen Sklerenchymfasern und Steinzellen vor (Abb. 4). Eine Endodermis ist vorhanden. Stärke enthaltende Zellen werden im Perizykel häufig angetroffen, aber auch in den Markstrahlen und im Mark beobachtet.

Das bifaziale Blatt zeigt vornehmlich auf seiner Unterseite anomocytische Spaltöffnungen (Abb. 5). Neben den Deckhaaren in den oben erwähnten Formen kommen in kleinen Senkungen auf der Blattoberseite, häufiger aber noch auf seiner Unterseite Drüenschuppen vor. Sie bestehen aus einer großen Basalzelle, von der 12-16 Zellen palisadenartig ausgehen. Die radiär angeordneten Drüsenzellen sind von einer 'Cuticularblase' umhüllt. Diese Drüenschuppen werden auch als 'extraflorale Nektarien' bezeichnet. Ihre Ontogenese wurde durch indische Autoren beschrieben. Eigentlich handelt es sich bei ihnen um Drüsenhaare, erst später setzen antiklinale Teilungen im Köpfchen und im Stiel ein und rufen die flächige Form und die Vielzelligkeit der vollausgebildeten Drüenschuppen hervor. Das Holz zeigt eine übliche Struktur. Drüenschuppen liegen auf der oberen Epidermis des Kelches und auf der äußeren Epidermis der



Abb 1



Abb 2

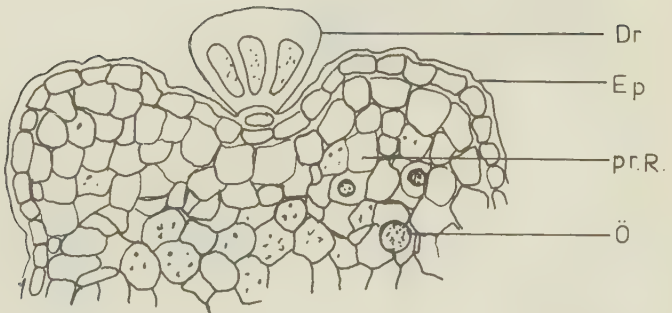
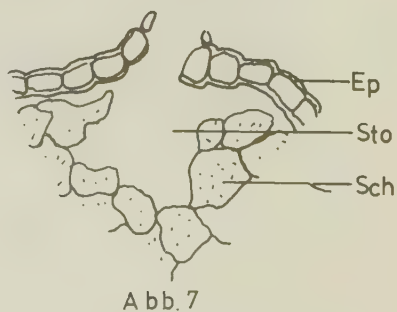
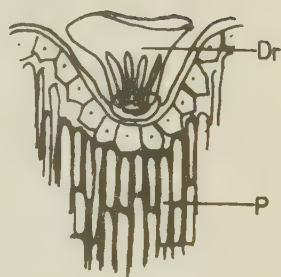
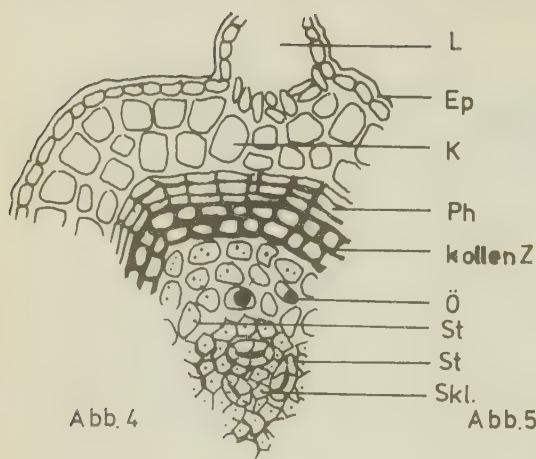


Abb 3



Korolle. Darüber hinaus sind auch Drüsenhaare vertreten, häufiger auf der Korolle als am Kelch (Abb. 8). Auf einem langen Stiel tragen sie ein vielzelliges Köpfchen (Abb. 9).

Erklärungen zu den Abbildungen 1 - 9

Abb. 1: Rechtwinkeliges Gliederhaar

Abb. 2: Kurzes Kegelhaar

Abb. 3: Querschnitt durch die junge Sproßachse

Ep	Epidermis
Dr	Drüsenschuppe
pr.R	primäres Rindenparenchym

Abb. 4: Querschnitt durch die ältere Sproßachse

Ep	Epidermis
L	Lentizelle
K	Kork
Ph	Phellogen
Kollen.Z	Kollenchymatische Zellen
Ö	Öltröpfchen
St	Stärkekörner
Stein	Steinzellen
Sk1	Sklerenchymfasern

Abb. 5: Blattunterseite in Aufsicht

Ep	Epidermis
Sto	anomocytische Spaltöffnungen
Ö	Öltröpfchen
Dr	Drüsenschuppe

Abb. 6: Blattquerschnitt

Ep	Epidermis
P	Palisadenparenchym
Dr	blasenartige Drüsenschuppe

Abb. 7: Blattquerschnitt mit Spaltöffnung und Schwammparenchym

Abb. 8: Drüsenhaar

Abb. 9: Drüsenhaar in Aufsicht

Die anatomischen Zeichnungen wurden angefertigt nach der Vorlage und der Beschreibung von M. SAYEEDUDDIN, M. MOINUDDIN J. Indian Bot. Soc., Madras 18 (1939).

2.4. Chemische Merkmale der Gruppe 790 nach EL GAZZAR und WATSON

Die Neuordnung von EL GAZZAR und WATSON (22) erfolgte vornehmlich nach morphologischen Gesichtspunkten. Es ergibt sich nun die Frage, ob die Pflanzen der Ajugoideae, der Prasieae, der Melittae und der Viticoideae auch in ihren chemischen Merkmalen gewisse verwandtschaftliche Beziehungen aufweisen. Dazu seien kurz einige Stoffgruppen erwähnt, die bisher bei den Vertretern der Gruppe 790 gefunden wurden.

Flavonoide Verbindungen

Die charakteristischen flavonoiden Verbindungen der Labiaten und Verbenaceen sind Flavone und in 3 Stellung methylierte Flavonole (31). Luteolin und Apigenin, frei oder als 7-Glykosid kommen sowohl bei den Ajugoideae wie auch bei den Viticoideae vor (siehe Tab. 2). Diosmin wurde in *Teucrium montanum* beobachtet (72). Als besonders kennzeichnend für die Familie der Lamiaceen werden von HARBORNE (29) Flavone mit einer Hydroxylgruppe in 6-Stellung und einer Methylgruppe am C (4) erwähnt. In *Teucrium chamaedrys* L. wurde Scutellarin von MOLISCH (50) auf mikrochemischer Art nachgewiesen. Es konnte bisher nur aus verschiedenen *Scutellaria*-Arten isoliert werden. SUBRAMANIAN (79) gelang es nun, Scutellarin und Pectolinarigenin aus einigen *Clerodendrum*-Arten zu gewinnen. Er stellt damit eine enge Beziehung der Verbenaceen zu den Labiaten her. In *Clerodendrum*-Arten kommen ferner Hispidulin (80) als 7-O-glucuronid und Acacetin-7-glurono-(1-2)glucuronid vor (52). Die Gattung *Vitex* ist gleichfalls sehr eingehend auf flavonoide Verbindungen untersucht worden. Einmal sind stark methylierte Verbindungen vertreten wie das Vitexicarpin (38) und das Casticin (4), zum anderen wurden C-glykosidische Flavonoide festgestellt wie das Vitexin (57, 58), Isovitexin und Vicenin (Tab. 2).

Wir treffen also bei diesen Unterfamilien einmal Flavone mit einem einfachen Substitutionsmuster an, weiterhin mit

Flavonoid	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	Gattung	Art	Lit.
Vitexin	H	OH	H	H	H	H	in 8 Gluc.	V.altissima V.leucoxydon V.littoralis V.peduncularis	73 73 73 57
Isovitexin	H	OH	Gluc	H	H	H		V.leucoxydon V.littoralis	73 73
Vicenin	H	OH	Gluc	H	Gluc	H		V.altissima	73
Homo Orientin	H	OH	H	H	H	H	in 5'OH	V.agn.cast. V.megapotamica	59 70
Orientin	OH	OH	H	Gluc	H	H		V.megapotamica	70

einer Hydroxyl- oder Methoxygruppe in 6-Stellung, dann werden C-glykosidische Derivate und stark methylierte Flavone beobachtet. Dabei ist der Verbindungstyp eng auf die Gattung begrenzt.

Steroide

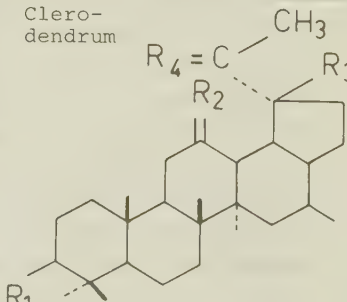
Innerhalb der zu betrachtenden Pflanzen konnten bisher aus der Reihe der Steroide nur die ubiquitär verbreiteten Vertreter β -Sitosterol, ' γ -Sitosterol' und Stigmasta-dien-3 β ol nachgewiesen werden (Tab. 3). Einzig die aus *Clerodendrum infortunatum* isolierten Steroide Clerodol, Clerodon und Clerodolon heben sich hier ab.

(24 S)äthylcholesta-5,22,25-trien-3 β ol wurde in vier Arten der Gattung *Clerodendrum* angetroffen. SUBRAMANIAN (81) schlägt daher vor, diese Verbindung als chemotaxonomisches Merkmal für die Gattung *Clerodendrum* zu verwenden.

Iridoide

Wie eingangs erwähnt, wird die Neuordnung nach EL GAZZAR und WATSON besonders gestützt durch die Untersuchungen KOOIMAN's über das Vorkommen von Iridoidglykosiden bei den Lamiaceen. Iridoide gehören zu der Verbindungsklasse der Monoterpene und tragen ein Cyclopentano-dihydropyran-Ringsystem. Diesen sekundären Pflanzenstoffen ist eine Enol-Äthergruppierung sowie eine Doppelbindung zwischen dem C (3) und dem C (4) gemeinsam. Sie sind ausschließlich als β -Glykoside oder als Diglykoside bekannt. Ihre Ringe sind cis verknüpft, und damit liegt die Stereochemie am C (5) und am C (9) fest. Auf Zusatz von Mineralsäuren reagieren sie mit bläulich-violetten Färbungen, um bald darauf schwarze Polymerisate zu bilden. Aufgrund dieser Farbreaktionen entdeckte sie GRESHOF (25) zum ersten Mal bei Verbenaceen und bezeichnete sie noch als 'Pseudoindikane'. Ihren heutigen Namen führen sie nach einem Ameisensekretstoff, dem Iridodial, das aus der australischen Ameise *Iridomyrmex detectus* zum ersten Mal isoliert wurde (12).

Tab. 3: Steroide aus der Gruppe 79o nach EL GAZZAR und WATSON

Art	Unterfamilie	Gattung	Steroid	Lit.																				
Ajuga Bracteosa	Ajugoideae	Ajuga	β -Sitosterol	5																				
Vitex Lucens	Viticoideae	Vitex																						
Clerodendr. infortunatum		Clero-dendrum		74																				
Clerodendr. Phlomides				6																				
Gmelina arborea				56																				
Ajuga bracteosa	Ajugoideae	Ajuga	" γ -Sitosterol"	5																				
Clerodendr. phlomides	Viticoideae	Clero-dendrum		6																				
Clerodendr. serratum				1																				
Clerodendr. infortunatum	Viticoideae	Clero-dendrum	Stigmasterol	2																				
Clerodendr. indicum Cl.infortunatum Cl.phlomides Cl.neriifolium	Viticoideae	Clero-dendrum	(24 S)äthyl-cholesta-5,22,25 trien-3 β -o1	81																				
Clerodendr. infortunatum	Viticoideae	Clero-dendrum		74																				
<table><tr><td>a)</td><td>R1</td><td>R2</td><td>R3</td><td>R4</td></tr><tr><td></td><td>OH</td><td>H₂</td><td>H</td><td>CH₂</td></tr><tr><td>b)</td><td>H</td><td>O</td><td>H</td><td>H, CH₃</td></tr><tr><td>c)</td><td>OH</td><td>O</td><td>OH</td><td>CH₂</td></tr></table> a) Lupeol=Clerodol b) Clerodon c) Clerodolon					a)	R1	R2	R3	R4		OH	H ₂	H	CH ₂	b)	H	O	H	H, CH ₃	c)	OH	O	OH	CH ₂
a)	R1	R2	R3	R4																				
	OH	H ₂	H	CH ₂																				
b)	H	O	H	H, CH ₃																				
c)	OH	O	OH	CH ₂																				

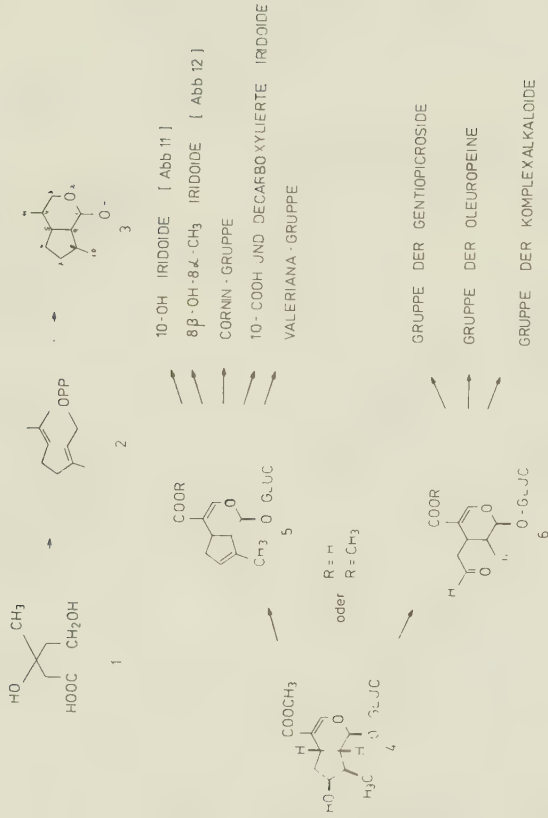


Abb. 10 Einteilung der Iridoide und Secoiridoide nach JENSEN (35)

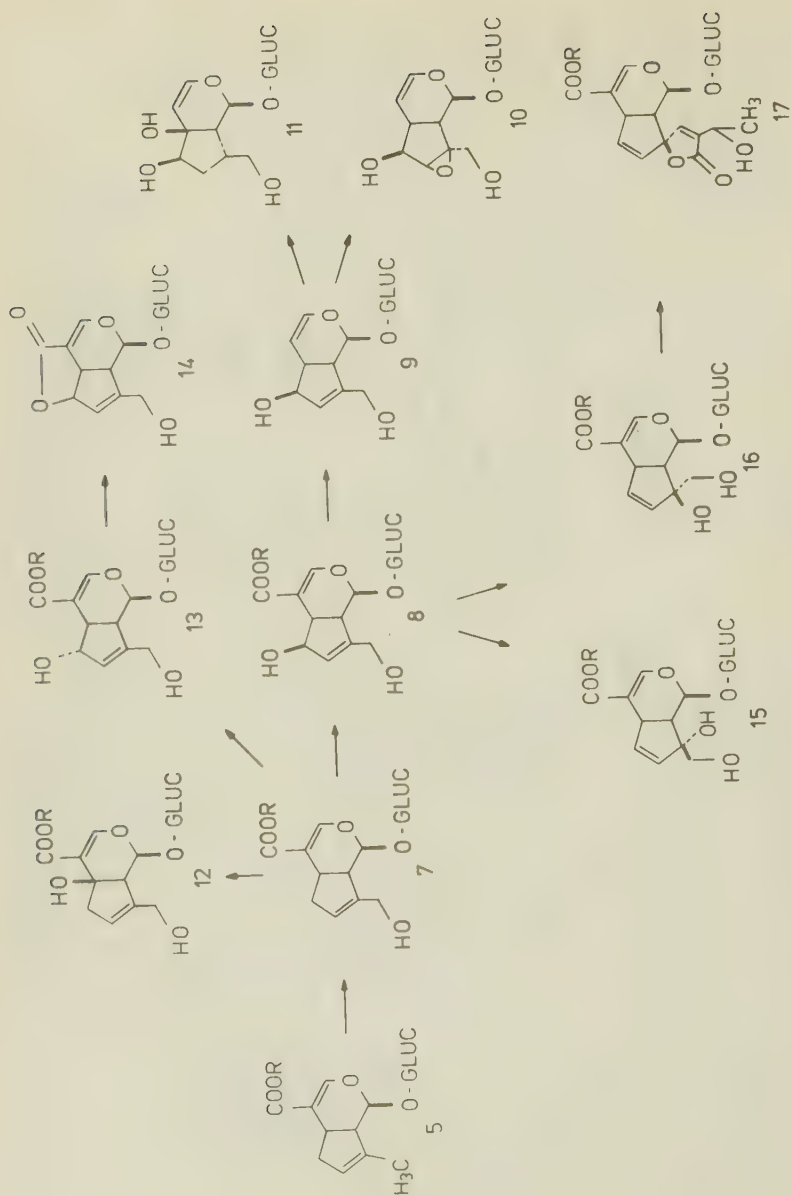


Abb. 11: Biosynthese der Gruppe der 10-OH Iridoide ohne Zwischenstufen nach JENSEN (35)

Abb. 11 Biosynthese der Gruppe der 1 α -OH Iridoide

- 7 Geniposide incl. Genipin und 1-Gentiobioside
- 8 Scandoside
- 9 Aucubin incl. 1 α -Glycosylaucubin, Agnuside, Odontoside, Melampyroside und andere Ester
- 10 Catalpol incl. Catalpolside, Methylcatalpol, Globularin, Picroside, Amphicoside und andere Ester.
- 11 Melittoside incl. Monomelittoside
- 12 Theviridoside incl. Theviside
- 13 Daphylloside (13 R=CH₃) incl. 'Galium Glykoside' (13 R=H), Asperuloside, Desacetylasperuloside
- 14 Desacetylasperuloside incl. Paederoside
- 15 Monotropein (15 R=H) incl. Vaccinoside
- 16 Gardenoside
- 17 Plumieride incl. anderer Plumeria Verbindungen und Allamandicines

Abb. 12 Die Gruppe der 8 β -OH-8 α -CH₃ Iridoide

- 18 Galiridoside
- 19 Lamiide incl. Caryoptoside (=5 desoxylamiide)
- 20 Ipolamiide incl. Reptoside
- 21 Lamalbide
- 22 Shantziside
- 23 Ajugol und Ajugoside
- 24 Antirrhinoside
- 25 Linarioside
- 26 Harpagid incl. Ester
- 27 Lamiol und Lamioside
- 28 Procumbide

Abb. 13 Die Biosynthese einiger Indol- und Ipecacuanhaalkaloide ohne Zwischenschritte

- | | |
|------------------|------------------|
| 29 Swerosid | 34 Emetin |
| 30 Vincosid | 35 Akuammicin |
| 31 Ipecosid | 36 Cantharanthin |
| 32 Vindolin | 37 Ajmalicin |
| 33 Geissoschizin | |

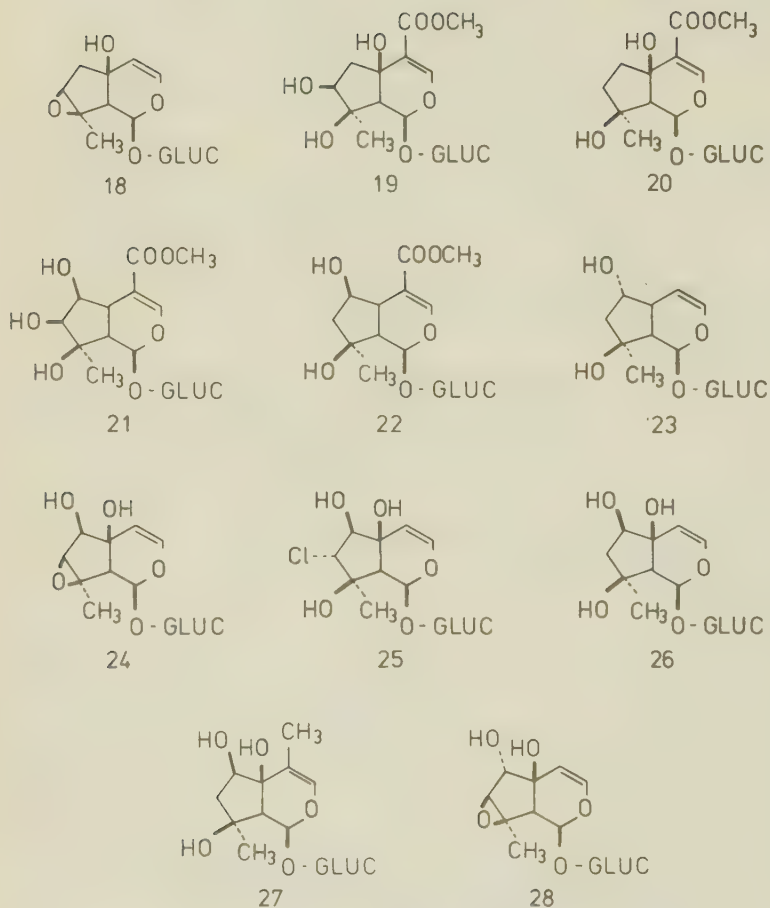


Abb. 12 Die Gruppe der 8 β -OH-8 α -CH₃ Iridoide

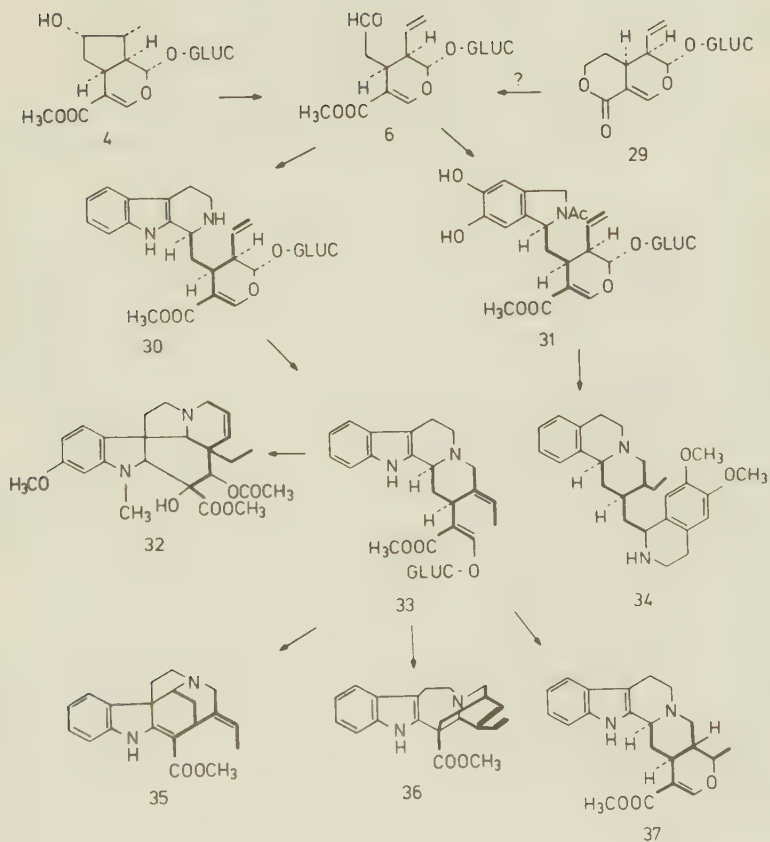


Abb. 13: Biosynthese einiger Indol- und Ipecacuanhaalkaloide
(ohne Zwischenstufen)

Lassen sich nun mit dem Auftreten bestimmter Iridoidglykoside innerhalb der Gruppe 79o Gemeinsamkeiten feststellen und damit Verwandtschaftsbeziehungen ableiten? Um diese Frage beantworten zu können, sei in der gebotenen Kürze auf die biogenetischen Zusammenhänge der Iridoide hingewiesen. Die Biosynthese der Iridoide ist nur bruchstückhaft bekannt (35). Durch zahlreiche Versuche mit radioaktiv markierten Substanzen konnte die Mevalonsäure als erster Baustein der Biosynthese ermittelt werden (Abb. 1o) (INOUE 1971, CORDELL 1974, GROSS 197o).

Geranylphosphat stellt eine Zwischenstufe auf dem Weg zum Grundgerüst der Iridoide dar. Betrachten wir später bei einigen Verbindungen das Grundgerüst, so werden wir bemerken, daß bei einigen Glykosiden das C (1o) oder C (11) fehlt. Die größte Klasse iridoider Verbindungen stellen die Secoiridoide dar, die als Glykoside oder als Bestandteil der Indol- oder Ipecacuanhaalkaloide auftreten. Dabei läßt sich Secologanin beispielsweise biosynthetisch vom Loganin ableiten durch Spaltung der Bindung zwischen dem C (7) und dem C (8) und der Ausbildung einer Aldehydfunktion am C (7). Eine Kondensation dieser Aldehydgruppe mit Tryptophan oder 3,4 Dihydroxyphenylalanin (Dopa) ermöglicht die Bildung der Alkaloide, von denen einige hier aufgezeichnet sind (Abb. 13).

Da über die verschiedenen Biosynthesewege iridoider Verbindungen noch weitgehend Unklarheit herrscht, gilt es, sich für eine Einteilung solche funktionellen Gruppen auszusuchen, die Rückschlüsse auf eventuelle biosynthetische Zusammenhänge erlauben (35).

Secologanin verkörpert einen wichtigen Zwischenschritt bei der Bildung aller anderen Secoiridoide (CORDELL 1974, INOUE et al. 1974) (14, 33). So muß die erste Unterteilung in Iridoide und Secoiridoide vom Loganin ausgehend erfolgen. Die Ergebnisse biosynthetischer Untersuchungen erlauben nun weiterhin eine Unterteilung der Secoverbindungen in drei Unter-

Tab. 4: Iridoidglykoside aus der Gruppe 79o nach EL GAZZAR
und WATSON

Art	Unterfamilie	Gattung	Iridoid	Lit.
			<u>'AUCUBIN-TYP'</u>	
Melittis melissophyllum	Stachydeae- Melitteae	Melittis	Melittosid Monomelittosid	67 68
Prasium majus	Prasieae	Prasium	Melittosid	4o
Vitex agn.cast. Vitex negundo Vitex trifolia Vitex lucens Vitex pseudo negundo Vitex rehmanni Vitex sereti Vitex megapotamica	Viticoideae	Vitex	Aucubin, Agnusid Aucubin, Agnusid Aucubin, Agnusid Aucubin, Agnusid Aucubin, Agnusid Aucubin, Agnusid Agnusid Agnusid	89 38 38 38 6o 6o 6o 61
			<u>'HARPAGID-TYP'</u>	
Ajuga chamaepitys Ajuga genevensis Ajuga reptans	Ajugoideae	Ajuga	Acetylharpagid Harpagid Acetylharpagid Harpagid Acetylharpagid Ajugol Ajugoside Reptoside	4o 4o 69 26 27
Teucrium cutense Teucrium flacum Teucrium hircanicum		Teucrium	Acetylharpagid Harpagid Acetylharpagid Harpagid Acetylharpagid	4o 4o 4o
Trichostema parishii		Trichostema	Harpagid Acetylharpagid	41
Melittis melissophyllum	Stachydeae- Melitteae	Melittis	Harpagid Acetylharpagid Ajugol Ajugoside	68 26 27
Caryopteris incana Caryopteris odo rata	Viticoideae	Caryopteris	Harpagid Acetylharpagid Lamalbid Lamiid	62 62

gruppen. Die Gruppe der Iridoide kann man sich in fünf Untergruppen aufgegliedert denken (JENSEN,35), wobei das 10-Desoxygeniposid als eine Zwischenstufe der Synthese all dieser Untergruppen zu behandeln ist. Die ersten beiden Untergruppen der Iridoide sind hier für unsere Betrachtungen von besonderem Interesse (siehe Abb. 10).

Einer gründlichen biogenetischen Prüfung sind bislang nur die Verbindungen, die am C (10) eine Hydroxylgruppe tragen, unterzogen worden (INOUE 1971) (34). Sie weisen alle im Cyclopentanring entweder eine Doppelbindung oder eine Epoxidfunktion auf. Das hier wiedergegebene Schema (Abb. 11) stammt von INOUE und wurde von JENSEN um die Verbindungen der Melittoside und Plumieride erweitert. Melittoside konnten nur bei Lamiaceen nachgewiesen werden. In dieser Familie tritt Aucubin gar nicht auf, wohl aber Catalpol, ein Abkömmling des Aucubins. Vor allem bei den Lamiaceae wurde die Eigenschaft festgestellt, am C (5) des Iridoidgrundgerüsts eine Hydroxylgruppe einzuführen. Plumierid kann man sich aus Gardenosid und einem Acetessigsäurerest aufgebaut vorstellen. Daher werden Melittosid und Plumierid bei den übrigen eingereiht und zum 'Aucubin-Typ' gezählt.

Als entwickelter wird die zweite Untergruppe von JENSEN (35) eingestuft, obwohl es über sie noch keine biosynthetische Arbeit gibt. Drei Iridoide dieser Aufstellung (Abb. 12) stehen dem Catalpol sehr nahe, nur fehlt ihnen die Hydroxylgruppe am C (10). JENSEN vermutet, daß hier vom 10-Desoxygeniposid ausgehend keine Oxidation am C (10), sondern am C (5) und/oder am C (6) stattfindet, gefolgt von einer Epoxidbildung in 7,8 Position. Bei diesen 8 β -hydroxy-8 α -methyl Verbindungen öffnet sich dann der Epoxidring hydrolytisch oder wird reduktiv geöffnet. Es ist auffällig, die biogenetisch fortgeschritteneren Iridoide vornehmlich bei den Lamiaceae anzutreffen. Gleichzeitig ist die starke Ähnlichkeit im Iridoidtyp zwischen den Verbenaceen und den Lamiaceen bemerkenswert.

Innerhalb der Gruppe 790 nach EL GAZZAR und WATSON treten zwei Iridoidtypen hervor, der 'Aucubin-Typ' und der 'Harpagid-Typ' (siehe Tab. 4). Die Gattung *Vitex* wird gekennzeichnet durch das Vorkommen von Aucubin und Agnusid. Ajugol und Ajugoside vertreten bei *Melittis* den 'Harpagid-Typ'. Melittoside und Monomelittoside den 'Aucubin-Typ'. Hier treten interessanterweise beide Iridoidarten in einer Pflanze nebeneinander auf. Die Gattung *Prasium*, in der Melittoside erscheinen, wird der Aucubinreihe zugeordnet, wie der zweite Teil der Aufstellung zeigt, führen die Lamiaceen hier vor allem Harpagid und/oder 8-o-Acetylharpagid. Von ihnen unterscheiden sich Ajugol und Ajugosid allein stereochemisch durch die Stellung der Hydroxylgruppe am C (6), die beim Reptosid völlig fehlt. Neben den in dieser Reihe üblichen Beispielen gelang es RIMPLER (62) aus *Caryopteris odorata* drei weitere Iridoide zu isolieren: das Lamalbid, das Lamiid und das Caryoptosid (5-Desoxydamiid).

Phytochemische Untersuchungen wurden bisher bei den Verbenaceen nur in geringem Umfang durchgeführt. Von den 21 auf ihren Iridoidgehalt hin geprüften Arten gehören allein jeweils 9 den Gattungen *Verbena* und *Vitex* an. Nicht alle Genera der Verbenaceen und Lamiaceen enthalten Iridoide. Bei den Gattungen der gesamten Abteilung B (Tab. 1) der Labiata treten sie überhaupt nicht auf. Auch die Gattungen *Clerodendrum* und *Callicarpa* der Verbenaceen scheinen keine Verbindungen dieser Art zu synthetisieren.

Informationen über weitere Vorkommen von Iridoiden in beiden Familien und Erkenntnisse über ihre Biosynthese dürften für die taxonomische Einordnung wertvoll sein.

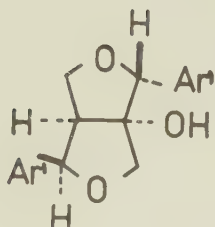
2.5 Bisher durchgeführte Untersuchungen über *Premna integrifolia* L. und *Gmelina arborea* L.

Das Wurzelholz von *Premna integrifolia* L. fand in der Volksmedizin Indiens breite Anwendung. Es wurde als Laxativum, Stomachicum und Antineuralgicum verwendet, galt aber auch als Heilmittel gegen Fieber, Leberleiden und Rheumatismus (13). Die indischen Bezeichnungen, die für *Premna integrifolia* gebräuchlich sind, lauten Ganikarika (Sanskrit), Ganiari und Arni (Hindi, Bengali, Gujrati) sowie Munnay (Tamil). DYMCK, WARDON und HOOPER (17) stellten ein amorphes Alkaloid fest, das Fehling'sche Lösung reduzierte und mit Eisen-III-chloridlösung eine grüne Farbe ergab. BASU und DANDIYA (3) erhielten aus dem Stammholz zwei verschiedene Alkaloide: Premnin (mit der empirischen Formel $C_{14}H_{15}NO$ und F.p. = $82^{\circ}C$) und Ganiarin (mit nicht geklärter Summenformel). KURUP (43) berichtete von der Isolierung eines Antibiotikums aus dem Wurzelholz. Die Substanz zeigte antibakterielle Eigenschaften gegen gram-positive Bakterien, ergab eine rote Färbung mit Eisen-III-chlorid und konnte in Form orange gefärbter Nadeln gewonnen werden.

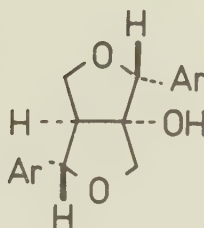
GRESHOF stellte bereits 1898 in seiner Arbeit über Verbenaceen in drei Arten der Gattung *Premna* (*Pr. pubescens* Vahl., *Pr. sambicina* Wall. und *Pr. foetida* Reinw.) chromogene Glykoside (Pseudoindikane) in der Rinde fest. So ergab der Zusatz von Mineralsäuren zu einer wässrigen Lösung des alkoholischen Extraktes schmutzigblaugrüne Niederschläge und eine Blaufärbung der Flüssigkeit. Trotz dieser Ergebnisse, die auf den Gehalt von Iridoiden schließen lassen, wurden bisher keine Iridoide aus der Gattung *Premna* isoliert.

Pflanzenteile von *Gmelina arborea* L. wurden in den letzten Jahren verschiedentlich bearbeitet. Innerhalb eines Screening-Testes stellte BHATTACHARJEE (7) mit Mayer's Reagenz das Vorkommen eines Alkaloids in *Gmelina arborea* fest. RAO (56) widerlegte ihn allerdings in späterer Zeit. JOSHI (36) isolierte aus dem hydrophilen Extrakt des Kernholzes das Lignan Gmelinol (Abb. 14 a) und aus dem lipophilen Extrakt den mehrwertigen Alkohol n-Octacosanol. Der langkettige

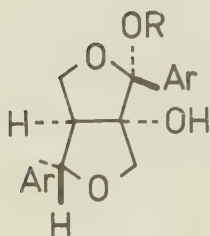
Abb. 14 Lignane aus *Gmelina arborea* L. (23)



a Gmelinol

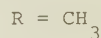


b Paulownin

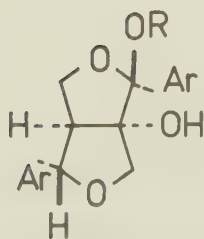
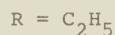


c Arbo reol R = H

d 2-o-Methylarboreol

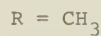


e 2-o-Äthylarboreol

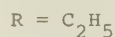


f Isoarboreol R = H

g 2-o-Methylisoarboreol



h 2-o-Äthylisoarboreol



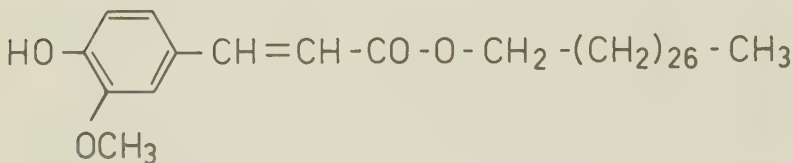
Ar = 3,4-methylenedioxyphenyl

Ar' = 3,4-dimethoxyphenyl

Ester Clutyferulat (Abb. 15 i) wurde neben Clutylalkohol (j) von GOVINDACHARI (24) zum ersten Mal aus dem Holz gewonnen. Demselben Autor (23) gelang gleichfalls aus dem Kernholz die Darstellung des Arboreols, eines Lignans. Die Struktur schlug er anhand spektroskopischer Daten vor. Arboreol ist das erste in der Natur frei vorkommende tetrahydrofuranoide Lignan, das einen Substituenten am C (2) trägt. ANJANEYULU und PELTER (24a) stellten vor einiger Zeit alle bisher aus *Gmelina arborea* L. isolierten Lignane zusammen (a-h) und klärten mittels umfangreicher spektroskopischer Untersuchungen ihre Struktur auf. Mit der Stoffklasse der Flavone beschäftigte sich RAO (56) und isolierte aus den Blättern von *Gmelina arborea* Apigenin, Luteolin, Quercetin sowie Hentriacontanol und β -Sitosterol. Die Flavone kamen dabei frei und in glykosidisch gebundener Form vor. Weitere, nicht näher bestimmte Flavonglykoside wurden erwähnt.

Die Gattung *Holmskioldia* gilt chemotaxonomisch als nicht bearbeitet. Es sind keine Veröffentlichungen über Inhaltsstoffe irgendeiner Art von *Holmskioldia sanguinea* Retz. oder *Holmskioldia tettensis* Klotz. bekannt.

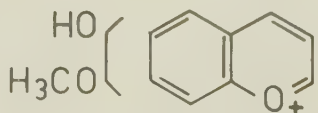
Abb. 15 Inhaltsstoffe aus *Gmelina arborea* L.



↑

i Clutyferulat

j Clutylalkohol



(m/e 177)

$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_3$

3. HAUPTTEIL

=====

3.1. Isolierung und Charakterisierung von Iridoidglykosiden

3.1.1. Iridoide aus *Holmskioldia sanguinea* Retz.

Um eine Übersicht über Verteilung und Vorkommen der Iridoide innerhalb der 4 zu untersuchenden Pflanzen zu erhalten, wurde jeweils der Äthanolextrakt einer kleinen Menge des Pflanzenmaterials einer Trennung in einen hydrophilen und einen lipophilen Anteil und einer anschließenden Vorreinigung mit XAD 2 Adsorberharz unterworfen (siehe nähere Beschreibung des Verfahrens bei *Holmskioldia sanguinea* Retz. Experimenteller Teil). Die hydrophilen Extrakte wurden in einem Dünnschichtchromatogramm miteinander verglichen.

Von einer größeren Menge Rohextrakt aus *Holmskioldia sanguinea* L. wurde, wie im experimentellen Teil ausführlich beschrieben, der hydrophile Teil an Celite mit Methylenchlorid/Methanol abgetrennt und über XAD 2 Adsorberharz vorgereinigt. Die einzelnen Fraktionen wurden einer dc-Prüfung unterzogen, wobei die Fraktion A sich als iridoidhaltig erwies. Zur Vortrennung mittels präparativer Säulenchromatographie eignete sich Kieselgel als Adsorbens und Methylenchlorid/Methanol/Wasser 65 : 35 : 3,5 als mobile Phase. Es wurden auf diese Weise die Hauptkomponenten mit den Arbeitsbezeichnungen Hosa III, Hosa II, Hosa I und Hosa o von den übrigen hydrophilen Bestandteilen geschieden. Da die Verbindung Hosa III im soeben erwähnten chromatographischen System den höchsten Rf-Wert aufwies, gelang es, sie durch Säulenchromatographie unter diesen Bedingungen zu isolieren. Die dc-analytische Prüfung in den verschiedenen Verteilungssystemen ergab für die verbleibenden Fraktionen eine weitere Trennmöglichkeit. So wurden mit der Oberphase des Systems Butanol / Methanol / Wasser 4 : 1 : 5 (Verhältnis Substanzgemisch zu Kieselgel 1 : 400) die Verbindungen Hosa II und Hosa I voneinander getrennt. Es gelang nicht, die Verbindung Hosa o rein und dc-einheitlich darzustellen.

Die als chromatographisch rein innerhalb des Trennverfahrens erhaltene Verbindung Hosa III kristallisierte nach längerer Zeit aus reinem Methanol aus. Es ergaben sich 60 mg in Form farbloser Plättchen. Mit dem Reagenz nach TRIM (83) zeigte Hosa III eine bläuliche Farbe. Es wurden von der Verbindung ein UV-, IR-, NMR- und ein Massenspektrum angefertigt. Die vorliegenden spektroskopischen Ergebnisse deuten auf das Vorhandensein eines iridoiden Grundkörpers hin.

Das UV Spektrum mit Wasser als Lösungsmittel zeigte Maxima bei 187 nm und bei 193 nm mit einer für Enoläther typischen Bande (Abb. 16). Eine ausgeprägte Absorptionsbande bei 1650 cm^{-1} im vorliegenden IR Spektrum (Abb. 17) bestätigte die Enoläthergruppierung. Die Bande im Bereich von 840 cm^{-1} des IR Spektrums (Literaturwert 848 cm^{-1}) wies auf eine Epoxidgruppe hin. Der Oxiran-Ring wurde außerdem durch eine positive Reaktion mit Natriumthiosulfat / Phenolphthalein (15, 78) bestätigt.

Es gelingt selten, das jeweilige Molekülion des vollständigen Iridoidglykosids im Massenspektrum aufzuzeichnen. Meistens stellt der erste Schritt der Abspaltung die Entfernung des Zuckers dar. Die glykosidische Bindung des Molekülions wird gespalten und unter gleichzeitiger Wasserstoffübertragung zerfällt es in das Zuckerfragment und das Aglykon. Dadurch ergibt sich häufig ein deutlicher Molekülpeak des Aglykons mit relativ hoher Intensität.

Die angegebenen Strukturformeln der einzelnen Zwischenprodukte innerhalb des Abspaltungsprozesses sind nicht bewiesen. Sie dienen nur dazu, die erhaltenen Bruchstücke sinnvoll zu erklären. Das Fragment mit der höchsten geraden Massenzahl wird im Spektrum von Hosa III bei $m/e\ 200$ beobachtet (Abb. 18). Dann erscheint ein um 18 Masseneinheiten geringeres Bruchstück, entstanden aus dem Aglykon durch die Abspaltung von Wasser. Das Fragment mit der $MZ\ 183$ ist wahrscheinlich auf die Oniumspaltung, die von WEINGES vorgeschlagen wurde (Abb. 18) zurückzuführen. Der Peak bei $m/e\ 164$ dürfte gleichfalls durch Wasserabspaltung ($182 \rightarrow 164$) verursacht sein. Er gibt einen

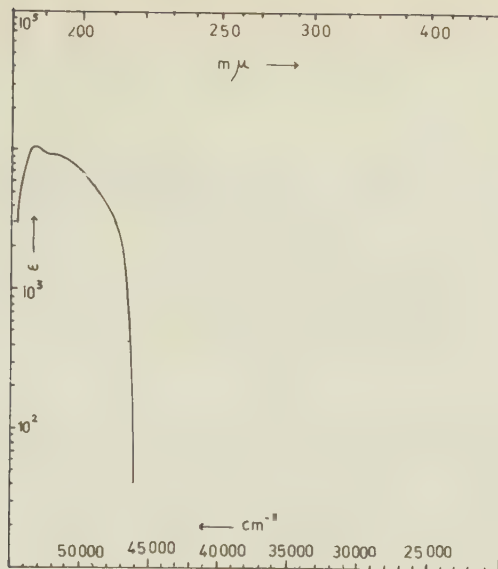


Abb. 16: UV-Spektrum der Verbindung Hosa III (in H₂O)

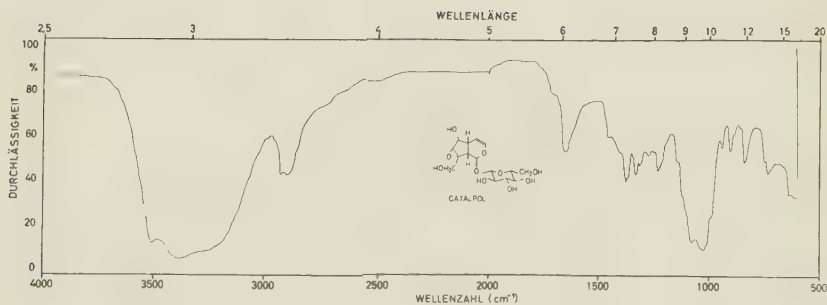
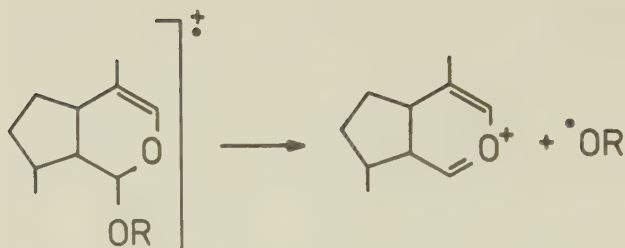


Abb. 17: IR-Spektrum der Verbindung Hosa III (KBr-Preßling)



ONIUMSPALTUNG

Abb. 18: Oniumspaltung bei Iridoidglykosiden WEINGES (86)

Hinweis auf das Vorhandensein einer Hydroxylgruppe im Molekül des Aglykons. Der Basispeak der MZ 31 im unteren Bereich des Spektrums läßt eine zusätzliche CH_2OH -Gruppe vermuten. Er wird gebildet durch direkte Abtrennung von $\text{H}_2\text{C}=\dot{\text{O}}\text{H}$ (m/e 31) aus dem Aglykon und erreicht meistens eine sehr hohe Intensität. Das in der Literatur beschriebene Fragment mit der Massenzahl 139 beim Vorhandensein einer Carboxymethylgruppe am C (4) des Dihydropyranringes liegt in diesem Spektrum nicht

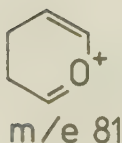


Abb. 19: Pyrylium-Ion m/e 81

vor. Bei fehlender Substitution am C (4) kommt es dafür mitunter zur Bildung eines Pyrylium-Ions mit der Summenformel C_5H_5O (Abb. 19).

Zur Strukturbestimmung lassen sich aus dem NMR-Spektrum der Verbindung Hosa III noch folgende Vermutungen ableiten (Abb. 22). Im Bereich von 6,49 - 6,61 ppm treten zwei Dubletts auf. Sie werden von Protonen an einer Doppelbindung hervorgerufen. Die chemische Verschiebung und die Kopplungskonstanten dieser Signale stimmen gut mit den Werten für die Enol-Äther-Gruppierung von Iridoiden überein. Da das Proton am C (3) ein Doppeldublett ($J_{3,4} = 5,9$ Hz, $J_{3,4} = 1,5$ Hz) bildet, koppelt es einmal mit dem Proton am C (4) und darüber hinaus durch Fernkopplung mit dem H am C (5). Das Signal für das Proton am C (9) wird im Bereich von 2-3 ppm erwartet und tritt bei 2,78 ppm ($J=1$ Hz) als Dublett auf. Daraus ergibt sich, daß die C-Atome (3), (4), (5) und (9) keinen Substituenten tragen. Den Signalen bei 4,95 ppm und 5,28 ppm lassen sich jeweils die Protonen am C (1') ($J=8$ Hz) und am C (1) ($J=7$ Hz) zuordnen. Die bisher erläuterten spektroskopischen Ergebnisse erlauben folgende Feststellungen:

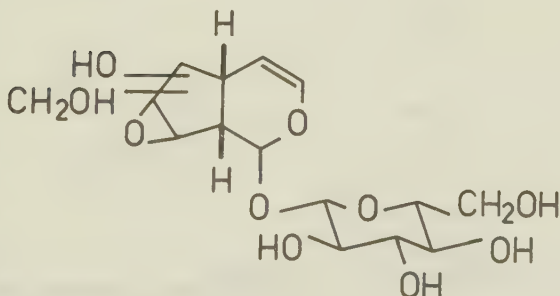


Abb. 20: Teilstruktur der Verbindung Hosa III

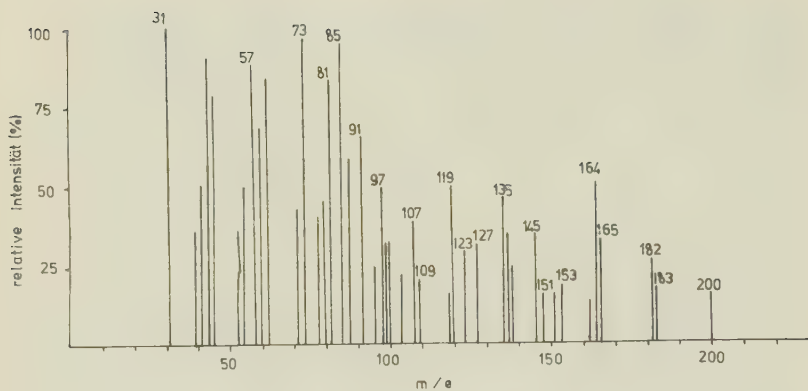


Abb. 21: Massenspektrum der Verbindung Hosa III

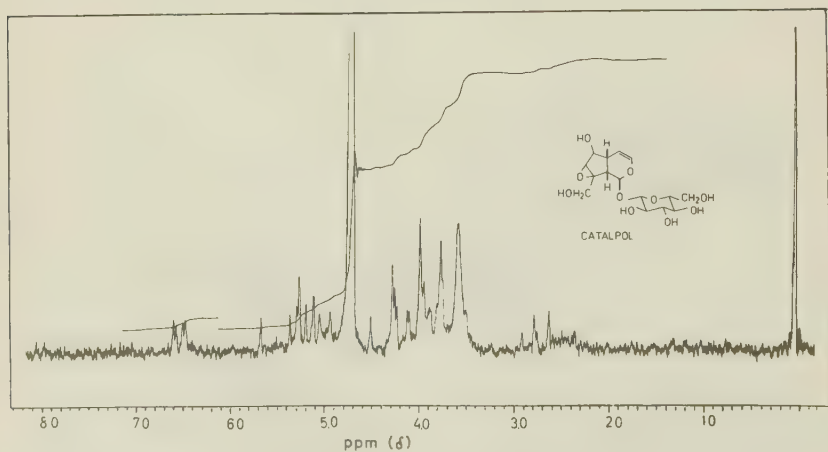


Abb. 22: NMR Spektrum der Verbindung Hosa III (D₂O) als Lösungsmittel)

1. Bei der Verbindung Hosa III handelt es sich um ein C_9 -Iridoid mit einer Epoxidfunktion (C (7) - C (8)).
2. Der Cyclopentanring des Grundkörpers ist mit einer primären und einer sekundären Hydroxylgruppe substituiert.

Aufgrund dieser Aussagen kann folgende Teilstruktur aufgestellt werden (Abb. 20).

Das Massenspektrum beweist, daß die Verbindung Hosa III als Glykosid vorliegen muß. Die für Glukose typischen Bruchstücke werden beobachtet:

m/e 163 - 145 - 127 - 109 - 73 - 61 - 60

Im NMR Spektrum sind die Signale der Zuckerprotonen im Bereich von 3,4 - 4,2 ppm und 4,6 - 5,0 ppm anzutreffen. Mit dieser Lage überdecken sie einige Protonensignale des Aglykons und erschweren die Interpretation des Spektrums. Durch die Acetylierung von Iridoidglykosiden kann einmal die Anzahl der Hydroxylgruppen genau festgelegt werden, außerdem werden die Protonen, die sich an den gleichen C-Atomen wie die Hydroxylgruppen befinden, durch die Nachbarschaft von Acylgruppen zum tieferen Feld hin verschoben.

Bei der Acetylierung der Verbindung Hosa III entstand nur ein Produkt, das durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit Toluol/Aceton 8 : 2 gereinigt wurde und aus reinem Athanol kristallisierte. Aus dem NMR Spektrum des Acetates (Abb. 23) geht hervor, daß es sich um ein Hexaacetat handelt. Die Signale für die Protonen am C (6) und am C (7) sind jeweils um 0,1 ppm zum tieferen Feld hin verschoben. Daraus läßt sich die direkte Nachbarschaft einer Acylgruppe ableiten. Da nun C (5) unsubstituiert ist und sich vom C (7) zum C (8) der Epoxidring spannt, muß sich die sekundäre Hydroxylgruppe am C (6) befinden. Die primäre Hydroxylgruppe ist am C (8) gebunden und bewirkt für das Proton am C (9) bei der Acetylierung im NMR Spektrum eine Verschiebung von 0,02 ppm zum höheren Feld hin.

Im Massenspektrum von Hosa III Ac (Abb. 24) finden sich typische Bruchstücke der acetylierten Glukose. In den veröf-

fentlichten Acetatspektren dieser Art stellt der Peak mit der Masseneinheit m/e 43 des Acetylium-Ions CH_3CO^+ den Basispeak dar. Weiterhin treten immer bei m/e 103 und m/e 145 Fragmente auf, die als die Diacetyl- und Triacetyloxoniumionen definiert sind. Ein deutliches Signal ruft das Pyronium-Ion der Glukose bei m/e 331 hervor. Dieses kann zwei verschiedene Zerfallswege gehen (Abb. 25). Einmal kann es zwei Moleküle Essigsäure und ein Keten abgeben oder stufenweise Essigsäure (m/e 271), ein Keten (m/e 229) und zwei Moleküle Essigsäure (m/e 169, m/e 109) abtrennen. Das Hexacetat von Hosa III zerfällt im Massenspektrum in den acetylierten Zuckerrest (m/e 331) und in das acetylierte Aglykon. Mit zwei acetylierten Hydroxylgruppen ist nun eigentlich ein Fragment mit der MZ 283 des vollständigen Aglykons zu erwarten. Statt dessen wird das Bruchstück m/e 223 sichtbar, das man sich aus dem Ion m/e 283 durch sofortige Abspaltung von Essigsäure entstanden denken kann. Nach der Abtrennung von Kohlenmonoxid ergibt sich m/e 195. Es erfolgt also wiederum die Spaltung der O - C (1') Bindung. Gleichfalls ist eine Oniumspaltung möglich (Trennung der O - C (1) Bindung). Das Bruchstück m/e 267 gibt noch Essigsäure ab und wandelt sich dadurch in das Ion m/e 207 um.

Ein Iridoid, das den ermittelten Aufbau zeigt und die vorgeschlagenen funktionellen Gruppen trägt, wurde von PLOUVIER (54) aus dem Holz von *Catalpa bignonioides* isoliert. Er bezeichnete die Verbindung noch als Catalpinosid, das sich mit dem später aus einigen *Plantago*- und *Buddleia*-Arten gewonnenen Catalpol als identisch erwies. Einen wichtigen Beitrag zur Strukturaufklärung des Catalpols lieferte 1962 BOBBITT (8).

Das zum Vergleich herangezogene authentische Material wurde aus *Plantago lanceolata* isoliert.¹⁾

Die Verbindung Hosa III und Catalpol zeigten in verschiedenen Fließmittelsystemen den gleichen Rf-Wert (siehe Tab. 6).

1) Ich danke Herrn Prof. Dr.H. Rimpler für die Überlassung einer Probe authentischen Catalpols.

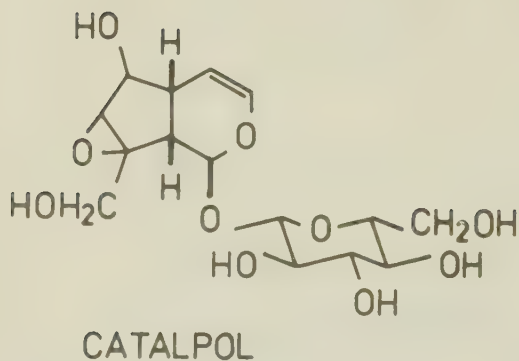


Abb. 25: Catalpol

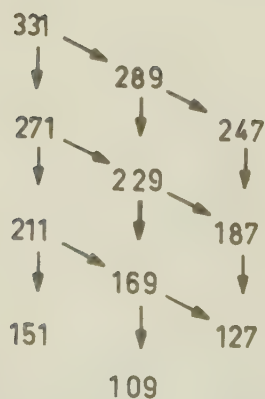
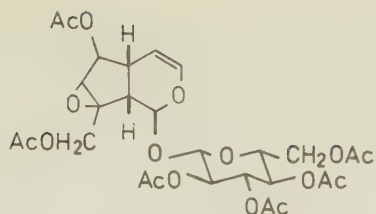


Abb. 26: Bruchstücke der acetylierten Glukose im Massenspektrum



CATALPOLHEXAACETAT

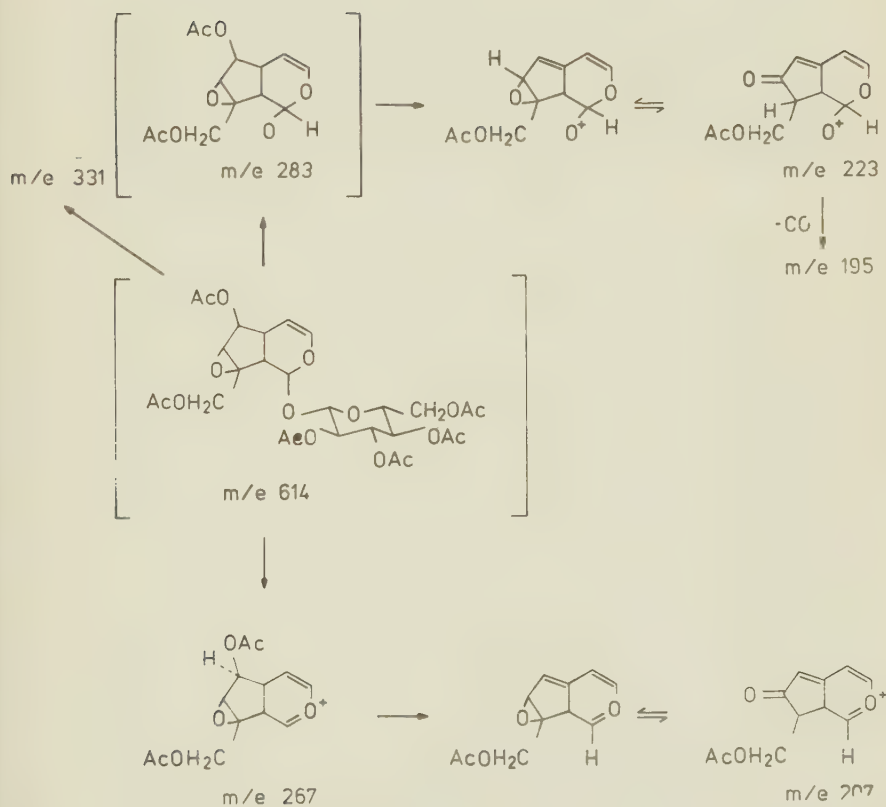


Abb. 27: Massenspektroskopisches Verhalten von Catalpolhexaacetat

In ihren IR-, MS- und NMR Spektren wiesen sie keine Unterschiede auf. Die Zerfallsmuster im Massenspektrum waren qualitativ gleich. Es wurden ferner Vergleiche des Acetats von Hosa III Ac und des Catalpolhexaacetats angestellt, die als Ergebnis die völlige Übereinstimmung beider Verbindungen in ihren Daten erbrachte. IR-, NMR- und Massenspektren der Hexaacetate waren identisch. Damit war die Identität von Hosa III als Catalpol bewiesen.

Drei weitere, vermutlich iridoide Verbindungen konnten, wie der Versuchsteil genauer beschreibt, aus *Holmskioldia sanguinea* Retz. isoliert werden. Sie wurden in sehr geringer Konzentration als amorphe, farblose Substanzen erhalten, die keine UV-Absorption oberhalb 210 nm zeigten. Aus der Tab. 6 geht hervor, daß die Verbindung Hosa II nach der Detektion mit Vanillin/Schwefelsäure eine ähnliche braune Farbe annahm wie Catalpol, während die beiden übrigen Substanzen sich rosaanfärben ließen. Alle drei lassen im jeweiligen IR Spektrum mit einer Bande im Bereich von 1650 - 1630 cm^{-1} eine Enol-Äther Gruppierung in ihrem Molekül vermuten. Da diese drei Verbindungen in *Holmskioldia sanguinea* Retz. nur in beschränktem Umfang akkumuliert werden, ist zu ihrer weiteren Untersuchung und Strukturbestimmung eine größere Menge Pflanzenmaterial erforderlich, als für die vorliegende Arbeit zur Verfügung stand.

3.1.2. Iridoide aus Holmskioldia tettensis Klotz.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine weitere Holmskioldia-Art auf Iridoidglykoside untersucht. Die Blätter und Zweige wurden nach dem allgemeinen Verfahren mit Äthanol extrahiert und mittels einer Celitesäule in einen lipophilen und einen hydrophilen Teil geschieden. Mit einer Aluminiumoxidsäule erfolgte eine Vorreinigung des hydrophilen Extraktes, der dann an Kieselgel mit Methylenchlorid / Methanol / Wasser 75 : 25 : 2,5 in einzelne Fraktionen getrennt wurde. Die beiden iridoidhaltigen Fraktionen enthielten hauptsächlich zwei Flecke, die sich beim Ansprühen mit Vanillin/Schwefelsäure intensiv rotbraun färbten. Die beiden Flecke zeigten oberhalb von 210 nm keine Absorption. Mit jeweils geringen Mengen beider Fraktionen wurde die Probe auf Iridoidglykoside nach TRIM und HILL (83) durchgeführt. Eine olivgrüne Färbung der Probelösung mit der Fraktion B (Verbindung Hote II) und eine intensive Lilafärbung der Lösung mit der Fraktion D (Verbindung Hote I) wurden als positiv bewertet. Beide Fraktionen wurden anschließend nach dem üblichen Verfahren (S.7) acetyliert. Die Verbindung Hote I lieferte zwei Acetylierungsprodukte, Hote II dagegen ergab nur ein Acetat. Das lipophilere Acetat Hote I Ac II wurde nach chromatographischer Abtrennung und Kristallisation mit dem Acetat der Verbindung Hote II dünnschichtchromatographisch verglichen. Beide hatten den gleichen Rf-Wert und zeigten auch in ihrem IR Spektrum vollständige Identität. Die IR Spektren beider Acetate wiederum stimmten völlig mit dem IR Spektrum des Harpagidhexaacetates überein. (Abb. 28). Papier- und dünnschichtchromatographisch war die Substanz Hote II in verschiedenen Fließmittelsystemen identisch mit 8-O-Acetylharpagid.

Die Verbindungen Hote I und Hote II wurden damit als die Iridoide Harpagid und 8-O-Acetylharpagid identifiziert. Da sich die tertiäre Hydroxylgruppe am C (5) der harpagidartigen Derivate nur schwer acetylieren läßt, wurden bei der Acetylierung der Substanz Hote I das Pentaacetat und das

Hexaacetat des Harpagids gebildet. Acetylharpagid liefert unter normalen Reaktionsbedingungen bei der Acetylierung

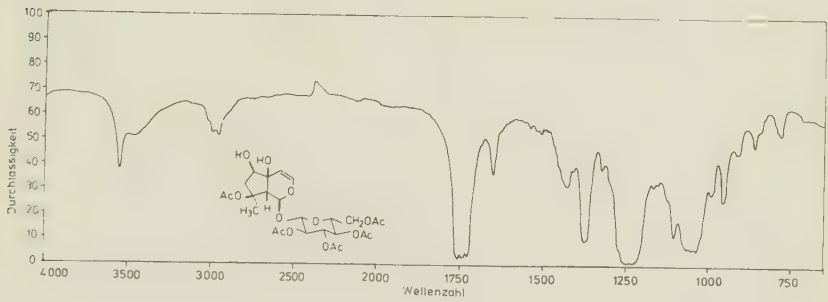


Abb. 28: IR Spektrum der Verbindung Hote I Ac II

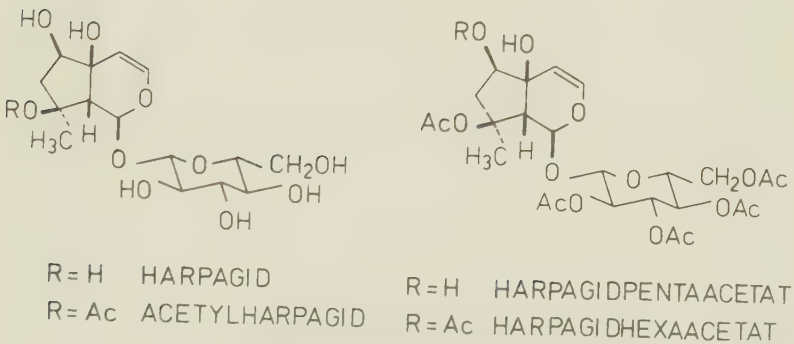


Abb. 29: Iridoidglykoside aus *Holmskioldia tettensis* Klotz.

ein Hexaacetat, das mit dem Harpagidhexaacetat identisch ist.

3.1.3. Iridoide aus *Premna integrifolia* L.

Von *Premna integrifolia* L. stand für chemotaxonomische Untersuchungen nur wenig Pflanzenmaterial zur Verfügung. Blätter und Zweige in einer Gesamtmenge von 20 g wurden nach dem Verfahren extrahiert, das im experimentellen Teil dieser Arbeit für die Isolierung der Iridoidglykoside aus *Holmskioldia sanguinea* Retz. ausführlich beschrieben wird. Vier Verbindungen mit den Arbeitsbezeichnungen Prem IV, Prem III, Prem II und Prem I des hydrophilen Gesamtextraktes wurden nach einer Vorreinigung mit XAD 2 säulenchromatographisch an Kieselgel mit Methylenchlorid/Methanol/Wasser 65 : 35 : 3,5 getrennt. Die Feintrennung erfolgte in zwei Schritten. Zuerst wurde eine Fraktion mit den Verbindungen Prem IV und Prem III erhalten. Die zweite Fraktion enthielt Prem II und Prem I.

Mengenmäßig überwog die Substanz Prem III. Wie die Tabelle 6 erläutert, zeigt die Verbindung Prem III in den verschiedenen Fließmittelsystemen den gleichen Rf-Wert wie die Verbindung Hosa III, die als Catalpol identifiziert wurde. Auch sie färbte sich nach dem Ansprühen mit Vanillin-Schwefelsäure braun an.

Im Massenspektrum treten die gleichen für Catalpol charakteristischen Bruchstücke auf wie im Massenspektrum der Verbindung Hosa III.

Infolge der geringen Substanzmenge und einer leichten Verunreinigung der Substanz Prem III konnten nicht alle Protonensignale des FT Spektrums mit Sicherheit bestimmt werden. Man findet aber viele für Catalpol charakteristische Signale wie die Tab. 5 zeigt:

H am	Prem III D ₂ O Signal bei 5,4 ppm	Catalpol D ₂ O Signal bei 5,6 ppm
C (3)	7,3 dd (1 H)	7,1 dd (1 H)
C (9)	5,8 d (1 H)	6,0 d (1 H)
C (1)	5,6 d (1 H)	5,8 d (1 H)
C (1)	3,3 d (1 H)	3,5 d (1 H)

Tab. 5: FT Protonenresonanzspektrum (D₂O) 1000 Hz

Wie die Tabelle zeigt, stimmen diese Werte sehr gut mit den entsprechenden Werten für Catalpol überein. Damit ist bewiesen, daß Prem III mit Catalpol identisch ist. Die Verbindungen Prem IV, Prem II und Prem I ließen gleichfalls die Vermutung zu, daß es sich bei ihnen um Iridoidglykoside handeln könnte. Alle drei Verbindungen nahmen nach dem Ansprühen mit Vanillin/Schwefelsäure eine rosa Färbung an und zeigten oberhalb 210 nm keine UV-Absorption. Ihre Rf-Werte in den verschiedenen Fließmittelsystemen ist der Tab. 6 zu entnehmen. Die Verbindungen wurden als farblose Lacke in Mengen unter 10 mg erhalten. Alle drei weisen im IR Spektrum eine Bande im Bereich von 1630 - 1660 cm⁻¹ auf, die einen Hinweis auf die Enol-Äther Gruppierung gibt und als typisches Merkmal im IR Spektrum für Iridoide anzusehen ist. Da nur eine sehr begrenzte Menge Pflanzenmaterials (20 g) von *Premna integrifolia* L. zur Verfügung stand, konnten die Verbindungen Prem IV, Prem II und Prem I nicht weiter untersucht werden.

3.1.4 Versuch zum Nachweis von Iridoiden in *Gmelina arborea* L.

Wie bei allen drei bisher behandelten Pflanzenarten wurde bei *Gmelina arborea* L. der Iridoidgehalt zuerst dünn-schichtchromatographisch untersucht. Die einzelnen Fraktionen des nach dem üblichen Verfahren (S. 6) erhaltenen hydrophilen Extraktes wurden in den verschiedenen Fließmittelsystemen der Tab. 6 chromatographiert. Es konnten keine ein-

Tab. 6: Vergleich der Rf-Werte der isolierten Iridoid-glykoside aus *Holmskioldia sanguines* Retz. und *Premna integrifolia* L.

Iridoid	Rf-Werte in Fließmittel					UV	Farbenreaktion Van./H ₂ SO ₄ 1%
	1	2	3	4	5		
Hosa III	0,39	0,25	0,17	0,32	0,17	-	braun
Hosa II	0,32	0,07	0,07	0,17	0,11	-	braun
Hosa I	0,28	0,26	0,25	0,33	0,32	-	rosa
Hosa o	0,18	0,17	0,12	0,21	0,28	-	rosa
Prem IV	0,45	0,16	0,23	0,42	0,35	-	rosa
Prem III	0,39	0,25	0,17	0,32	0,17	-	braun
Prem II	0,28	0,26	0,25	0,33	0,32	-	rosa
Prem I	0,14	0,05	0,07	0,24	0,17	-	rosa
Catalpol Vergleich	0,39	0,25	0,17	0,32	0,17	-	braun

Fließmittel 1 = Methylenchlorid / Methanol / Wasser

65 : 35 : 3,5

2 = Aceton / Wasser 95 : 5

3 = Butanol / Toluol / Wasser (Oberphase)

9 : 1 : 10

4 = Butanol / Methanol / Wasser (Oberphase)

4 : 1 : 5

5 = Isoamylalkohol / Hexan / Eisessig / Wasser

(Oberphase) 30 : 10 : 30 : 30

Kammersättigung 100 ml / 90 Min.

Temperatur 20,5° - 21°C

deutig begrenzten, sich anfärbende Substanzflecke beobachtet werden. Iridoidglykoside wurden nicht nachgewiesen. Die Pflanze wurde daher nicht weiter bearbeitet.

3.2. Isolierung und Identifizierung lipophiler Verbindungen aus Holmskioldia sanguinea Retz.

3.2.1 Sterole

Die Verbindung HSL II konnte, wie im experimentellen Teil beschrieben, durch zwei Systeme der Grobtrennung säulenchromatographisch an Kieselgel und Aluminiumoxid von den übrigen Bestandteilen des lipophilen Auszugs geschieden werden. Eine anschließende Feintrennung an Kieselgel mit Cyclohexan / Essigester 65 : 35 ließ sie als dc-einheitlich erscheinen. Die Verbindung zeigte keine Absorption oberhalb des Bereiches von 200 nm und färbte sich nach dem Ansprühen mit Vanillin-Schwefelsäure konz. erst rot, um bald darauf in eine violette Farbe überzugehen. Während der Schmelzpunktbestimmung traten bei einzelnen Kristallen Veränderungen auf, die auf polymorphe Eigenschaften zurückgeführt wurden.

Aus dem IR Spektrum ist durch Banden bei $1610 - 1660\text{ cm}^{-1}$ zu ersehen, daß innerhalb des Moleküls isolierte C=C Doppelbindungen auftreten (Abb. 30). Neben ausgeprägten C-H Valenzschwingungen ($2860 - 2950\text{ cm}^{-1}$) und dem Vorhandensein einer oder mehrerer Hydroxylgruppen teilt das IR Spektrum keine weiteren Informationen mit.

Im Massenspektrum von HSL II kann das Bruchstück mit der MZ 412 als Molekülion angesehen werden (Abb. 31). Doch tritt hier auch ein um 2 Masseneinheiten höheres Fragment bei m/e 414 auf. Auffällig erscheinen die zahlreichen Bruchstückpaare innerhalb der Abspaltung, die sich gleichfalls um 2 Masseneinheiten unterscheiden. Es liegt wahrscheinlich ein Gemisch zweier Verbindungen vor. Der Rf-Wert im chromatographischen Vergleich, sowie die Beobachtungen im Massenspektrum lassen

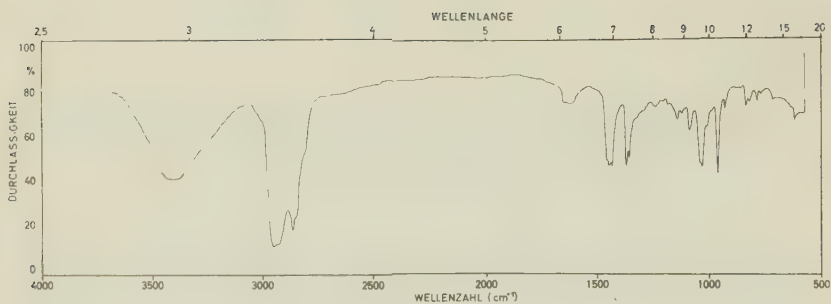


Abb. 30: IR Spektrum der Verbindung HSL II (KBr - Preßling)

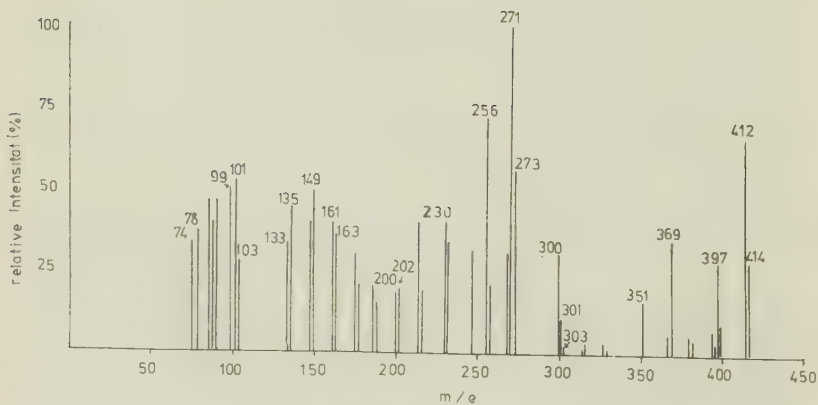


Abb. 31: Massenspektrum der Verbindung HSL II

vermuten, daß es sich bei HSL II um ein Gemisch sauerstoffhaltiger Steroide handelt. Eine Identifizierung soll mit Hilfe des Massenspektrums und einer gaschromatographischen Vergleichsanalyse erfolgen. Als kennzeichnend für Δ^5 -3-Hydroxysteroiden werden im Massenspektrum die Ionen $M - 85$ und $M - 111$ angesehen. Ihre Entstehung geht auf eine komplexe Umlagerung zurück. Bruchstücke bei m/e 232 oder m/e 231 = 232-H im vorliegenden Spektrum sprechen ebenso dafür, daß diese Verbindungen zu den Δ^5 -3-Hydroxysteroiden zu zählen sind (Abb. 32).

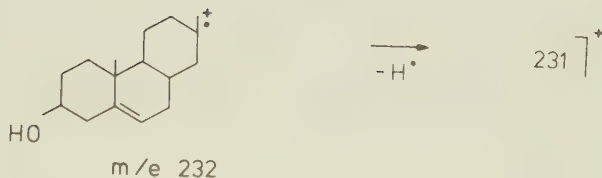
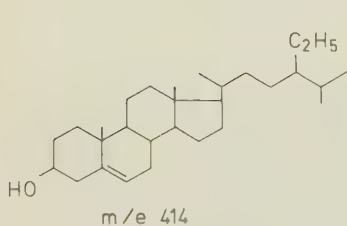


Abb. 32: Bruchstück m/e 232 im Massenspektrum von Δ^5 -3-Hydroxysteroiden

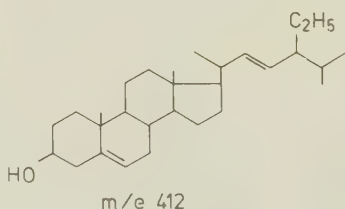
Weiterhin findet sich das Strukturelement der MZ 300. Es ist typisch für Stigmasterol und entsteht nach einer Umlagerung, deren Mechanismus noch unbekannt ist und einer anschließenden Spaltung der Bindung zwischen C (20) und C (22). Es liegt also ein Gemisch zweier Δ^5 -3-Hydroxysteroiden vor. Betrachtet man die Verbindung mit dem Molekulargewicht 412 und der Summenformel $C_{29}H_{48}O$ als Stigmasterol, so scheint als deren Partner β -Sitosterol in Frage zu kommen. Das Steroid β -Sitosterol trägt die Summenformel $C_{29}H_{50}O$, hat das Molekulargewicht von 414 und ist gleichfalls am C (24) substitu-

iert. β -Sitosterol unterscheidet sich vom Stigmasterol allein durch die Doppelbindung Δ^{22} . Um die Vermutung zu bestätigen, wurde mit dem Gemisch und den entsprechenden Vergleichssubstanzen eine gaschromatographische Analyse durchgeführt. Auch bei Steroiden übt die Anzahl von Doppelbindungen einen Einfluß auf die Retentionszeit einer Verbindung aus (42). Das Gaschromatogramm wurde mit Äthylenglykolsuccinat als stationäre Phase aufgenommen. β -Sitosterol zeigte eine längere Retentionszeit (8,9 min) als das um eine Doppelbindung reichere Stigmasterol (7,7 min).

Mit authentischen Proben von Stigmasterol und β -Sitosterol wurde die Verbindung HSL II verglichen. IR Spektren und Gaschromatogramm zeigten im Vergleich volle Übereinstimmung. Die Abspaltungsmuster im Massenspektrum glichen einander (Tab. 7). Auch die Angaben in der Literatur (21) über beide Steroide standen im Einklang mit den vorliegenden Ergebnissen. Damit wurde die Verbindung HSL II als ein Gemisch von Stigmasterol und β -Sitosterol identifiziert. Dabei verdeutlichen die Intensitäten der Signale von HSL II im Massenspektrum und im Gaschromatogramm, daß Stigmasterol in höherer Konzentration vertreten ist als β -Sitosterol.



24-ÄTHYL-CHOLESTEROL
[β -SITOSTEROL]



24-ÄTHYL- $\Delta^{5,22}$ CHOLESTADIEN-3 β -OL
[STIGMASTEROL]

Abb. 33: 24-äthylcholesterol
(β -Sitosterol)
m/e 414

24-äthyl- $\Delta^{5,22}$ cholestadien-
3 β -ol (Stigmasterol)
m/e 412

Tab. 7: Massenspektroskopisches Verhalten der Verbindung
HSL II

Ion	m/e (rel.Intensität)	m/e(rel.Intensit.)	abge- spalten
M	414 (28,1)	412 (66)	-
M - 15	399 (9,4)	397 (28)	CH ₃
M - 18	396 (3,1)	394 (6,2)	H ₂ O
M - 33	381 (4,7)	379 (6)	CH ₃ +H ₂ O
M - 85	329 (1)	327 (4)	C ₅ H ₉ O
M - 111	303 (3)	301 (12,5)	C ₇ H ₁₁ O
M - Teil der Seiten- kette		300 (30)	C ₈ H ₁₅
M-Seiten- kette	273 (76)		Seiten- kette
M-Seiten- kette + 2H	271 (100)		Seiten- kette+2H

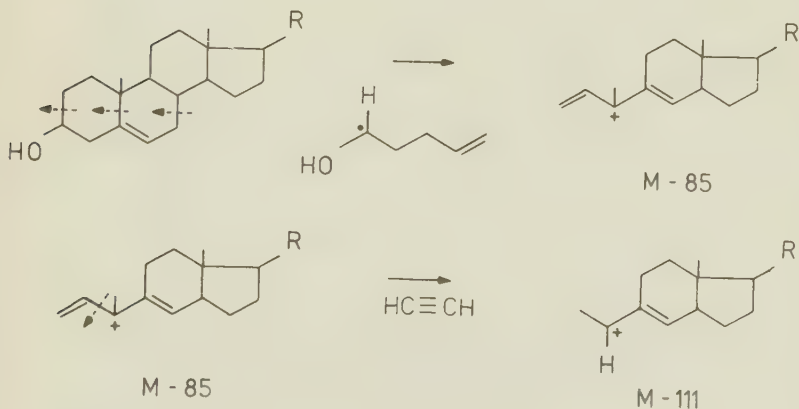


Abb. 34: Typische Bruchstücke im Massenspektrum von
5³-3-Hydroxysteroiden

3.2.2 Ein Flavon aus Holmskioldia sanguinea Retz.

Der Versuchsteil dieser Arbeit beschreibt die verhältnismäßig einfache Art der Isolierung einer Verbindung mit der Arbeitsbezeichnung HSL III aus *Holmskioldia sanguinea* Retz. Nach einer säulenchromatographischen Vortrennung des lipophilen Extraktes an Kieselgel mit dem Laufmittel Chloroform / n-Propanol 95 : 5 gelang es, mit einer zweiten Säule, dieses Mal war Aluminiumoxid das Adsorbens und Toluol / Chloroform 70 : 30 die mobile Phase, die Verbindung HSL III rein zu erhalten. Sie kristallisierte aus einem Äthanol / Chloroform Gemisch in Form gelber Nadeln. Von der Verbindung HSL III wurden IR-, UV-, NMR- und Massenspektren angefertigt. Die vorliegenden spektroskopischen Ergebnisse sprechen dafür, daß man für die Verbindung HSL III ein Flavon-Grundgerüst annehmen kann.

Das IR Spektrum (Abb. 35) zeigt mit den Banden 680, 775, 1500 und 1600 cm^{-1} den aromatischen Charakter der Substanz an. Die starke Carbonylbande bei 1645 cm^{-1} gilt als Hinweis auf ein Flavon (45). Signale im Bereich von $855 - 835\text{ cm}^{-1}$ sind als C-H Deformationsschwingungen bei 1,4 Pyronen aufzufassen. Das UV-Spektrum (Abb. 36) zeigt den für ein Flavon typischen Verlauf (45). An die verhältnismäßig starke Absorptionsbande II ($\lambda_{\text{max}} = 275\text{ nm}$) schließt sich die Bande I ($\lambda_{\text{max}} = 340\text{ nm}$) mit nur geringer Intensität an. Dieses Verhalten weist auf ein Flavon mit einem unsubstituierten B-Ring hin. Mit Hilfe der Interpretation des IR und des UV Spektrums kann das NMR Spektrum der Verbindung HSL III (Abb. 37) folgendermaßen gedeutet werden. Das Singulett bei 4,0 ppm ist mit 3 Protonen eine aromatische OCH_3 -Gruppe. Die Multipletts bei 7,7 ppm und 8,2 ppm charakterisieren ein A_2B_3 -System und bestätigen damit die Vermutung, daß es sich um ein im B-Ring unsubstituiertes Flavon handelt. Endgültig wird die fehlende Substitution im B-Ring durch die Bruchstücke m/e 105 (Benzoylriumion) und m/e 77 (Phenylion) des Massenspektrums von HSL III bewiesen (Abb. 38, 39). Die Singuletts des NMR Spektrums von HSL III bei 6,4 und 7,0 ppm vertreten jeweils ein aromatisches

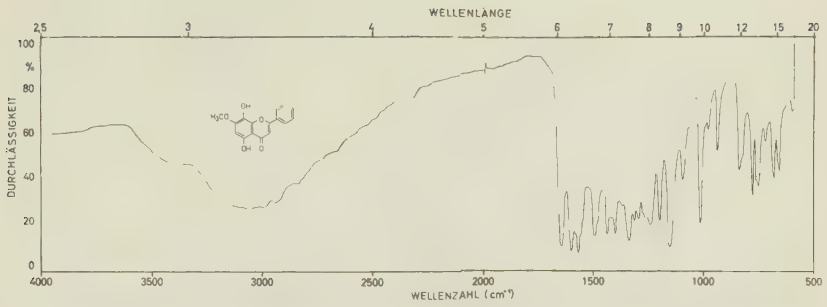


Abb. 35: IR Spektrum der Verbindung HSL III (KBr-Preßling)

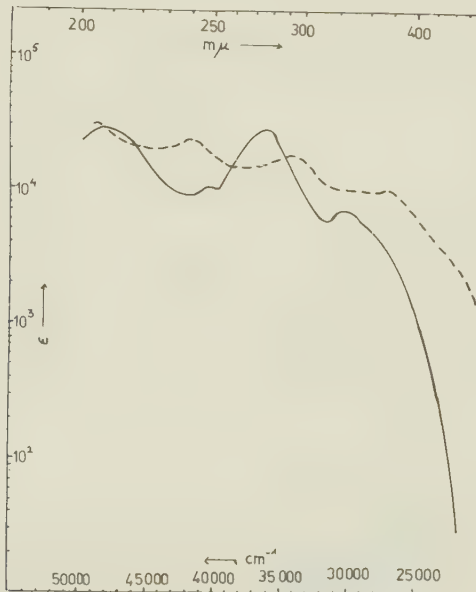


Abb. 36: UV Spektrum der Verbindung HSL III
 HSL III + Na-acetat } —
 HSL III + AlCl₃ } ----
 in CH₃OH

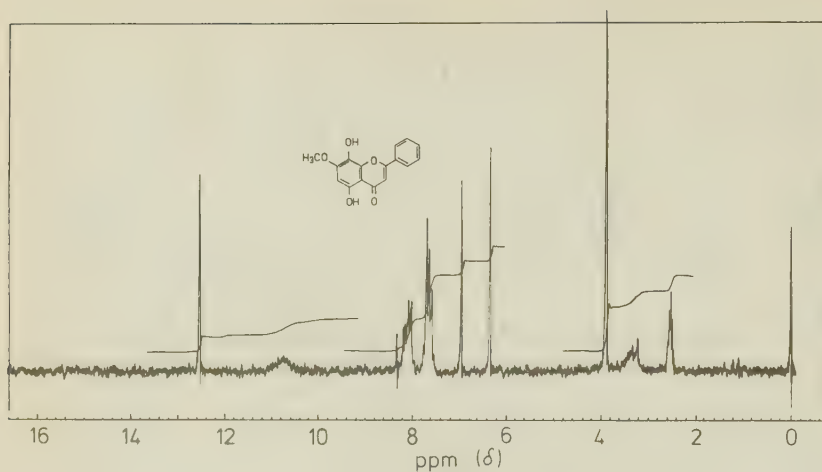


Abb. 37: NMR Spektrum der Verbindung HSL III (DMSO)

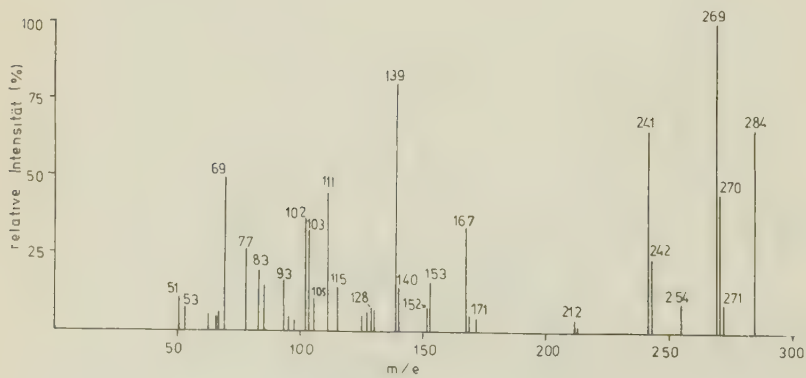


Abb. 38: Massenspektrum der Verbindung HSL III

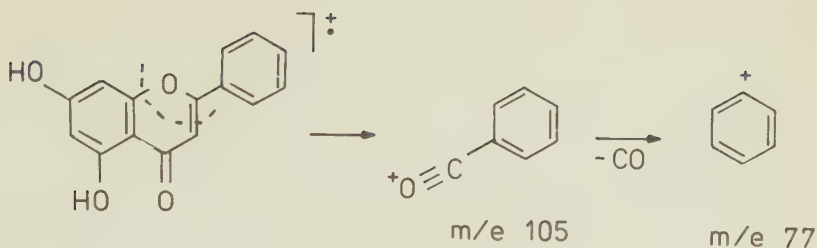


Abb. 39: Massenbruchstücke eines im B-Ring unsubstituierten Flavons

Proton. Dabei müssen sie, da sie als Singulettts erscheinen, isoliert liegen. Ein Singulett bei 12,6 ppm entspricht dem Proton einer Hydroxylgruppe. Da bei so niedrigem Feld meistens chelatisierte OH-Gruppen erscheinen, kann man annehmen, daß es sich um die OH-Gruppe am C (5) handelt. Wie das Singulett bei 12,6 ppm, so kann ein breites Signal bei 10,8 ppm mit D_2O ausgetauscht werden. Es liegt also eine zweite Hydroxylgruppe im Molekül vor.

Die bisherige Spektrendiskussion erlaubt folgende Feststellungen:

- Die Substanz hat ein Flavon-Grundgerüst.
- Der B-Ring des Flavons trägt keinen Substituenten.
- Am C (5) des Moleküls befindet sich eine OH-Gruppe.
- Weiterhin besitzt die Verbindung eine aromatische OCH_3 -Gruppe und eine zweite OH-Gruppe.

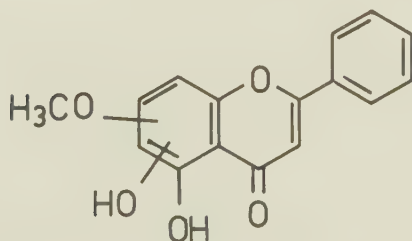


Abb. 40: Teilstruktur der Verbindung HSL III.

Bei der Acetylierung der Verbindung HSL III wurden zwei Reaktionsprodukte erhalten, die säulenchromatographisch an Kieselgel mit Toluol / Aceton 80 : 20 getrennt wurden. Wie die jeweiligen Massenspektren zu erkennen geben, ist die Verbindung HSL III Ac II ein Monoacetat (Abb. 41) und die Verbindung HSL III Ac I ein Diacetat (Abb. 42). Damit werden die zwei Hydroxylgruppen bestätigt. Es läßt sich auch eine Aussage über die Lage der zwei aromatischen Protonen treffen, die durch die Acetylierung eine Verschiebung erfahren haben. Durch umfangreiche Untersuchungen von MASSICOT (47), HARBORNE (30) und FAVID (20) wurden die Werte dieser Verschiebung festgestellt. Die Auswirkung einer acetylierten 5 OH-Gruppe zeigt sich bei dem Proton am C (3) in einer Erniedrigung der chemischen Verschiebung um 0,03 - 0,1 ppm. Tatsächlich wird im Spektrum der vollacetylierten Verbindung ein Singulett bei 6,9 ppm entdeckt. Es erfährt also im Vergleich zum Spektrum der nicht acetylierten Verbindung HSL III eine Verschiebung um 0,1 ppm. Der Abschirmungseffekt einer 5-Acetoxygruppe auf das Proton am C (6) ist etwas geringer. Es wird nur um 0,22 - 0,29 ppm zu niedrigerem Feld verschoben. Das zweite aromatische Proton, das im NMR Spektrum von HSL III als Singulett bei 6,41 ppm auftritt, erscheint im Spektrum der vollacetylierten Verbindung bei 6,70 ppm, was einer Verschiebung von 0,29 ppm gleichkommt. Damit werden die Protonen den Stellungen am C (3) und am C (6) zugeordnet. Die Verbindung HSL III wurde mit Diazomethan methyliert. Die Integration des Signals bei 4,0 ppm mit 6 Protonen im NMR Spektrum des Methylierungsproduktes von HSL III zeigt, daß zwei Methylgruppen im Molekül von HSL III Methyl vorliegen. Das Singulett des Protons eines Hydroxylgruppe bei 11,6 ppm blieb erhalten und konnte mit D₂O ausgetauscht werden (Abb. 43). Auch das IR Spektrum (Abb. 44) deutet mit der Bande bei 3600 - 3300 cm⁻¹ auf eine noch freie OH-Gruppe hin. Diese Erscheinung kann gleichfalls als ein Beweis einer Hydroxylgruppe in 5 Stellung aufgefaßt werden, da sie sich mit Diazomethan nicht methylieren läßt.

Auf dem Flavonoidgebiet gilt noch heute bei der analytischen Betrachtung das UV Spektrum als besonders charakteristisch

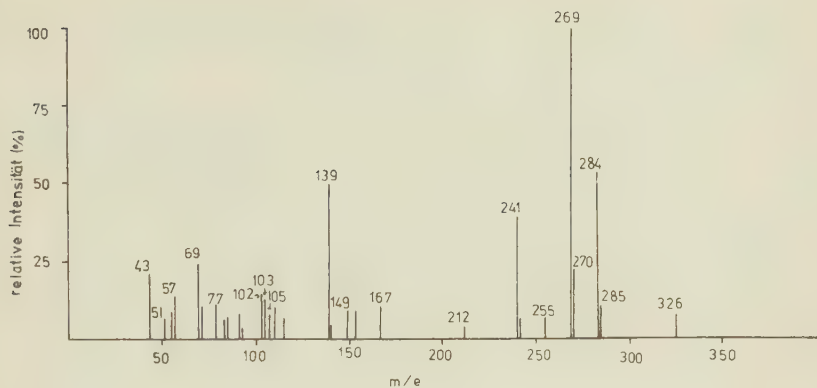


Abb. 41: Massenspektrum der Verbindung HSL III Ac II

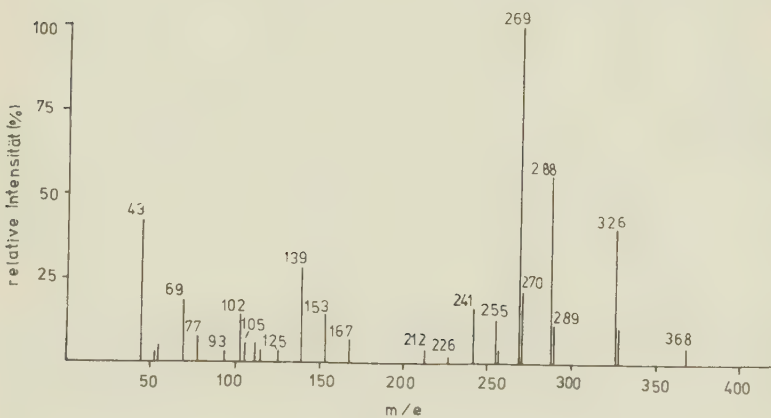


Abb. 42: Massenspektrum der Verbindung HSL III Ac I

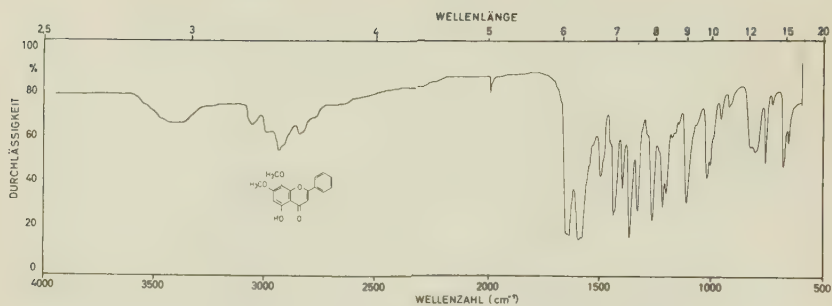


Abb. 43: IR Spektrum der Verbindung HSL III Methyl
(KBr-Preßling)

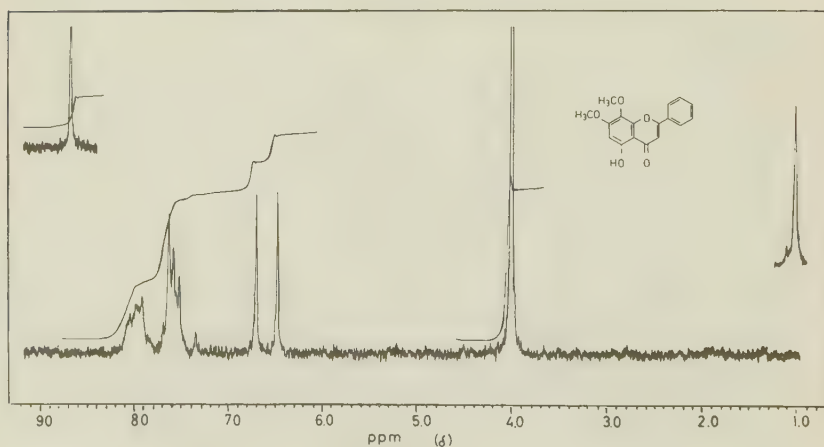


Abb. 44: NMR Spektrum der Verbindung HSL III Methyl
(CDCl₃-Offset 300)

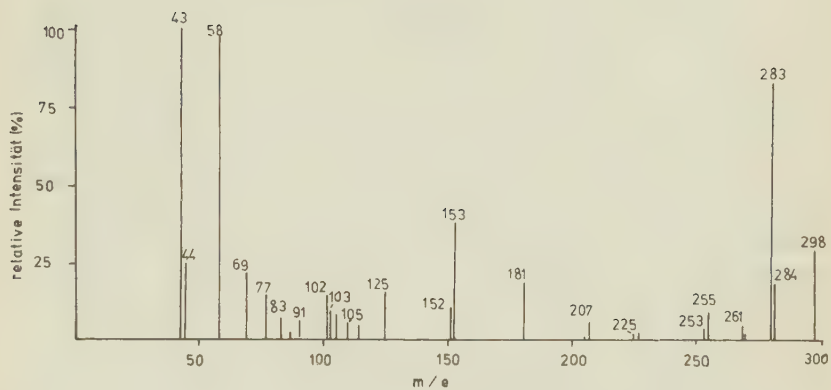


Abb. 45: Massenspektrum der Verbindung HSL III Methyl

für eine Verbindung. Das UV Spektrum des Methylierungsproduktes von HSL III gleicht dem Spektrum der Ausgangssubstanz, da nur wesentliche Veränderungen der Banden auftreten, wenn die Verbindung in 3,5 und 4'-Stellung substituiert ist (Abb. 46). Die UV Spektren der Acetate (Abb. 46) zeigen erwartungsgemäß einen hypsochromen Effekt der Maxima, da im Verlauf der Acetylierung zwei Hydroxylgruppen besetzt wurden. Die schwächere Base Natriumacetat kann ein Reagenz sein, um eine freie OH-Gruppe in 7'-Stellung zu identifizieren. In einem solchen Fall kann die Absorptionsbande im kurzwelligen Bereich um ungefähr 5 - 20 nm verschoben sein. Die Zugabe von Natriumacetat zu der Verbindung HSL III bewirkte keine bathochrome Verschiebung (Abb. 36). Allerdings ist dabei zu bemerken, daß FARKAS und LEE (18, 19, 44) keine bathochrome Verschiebung der Bande II bei einigen im A-Ring hochsubstituierten Flavonoiden festgestellt haben, obwohl eine freie Hydroxylgruppe am C (7) vorlag. Die fehlende Veränderung des UV Spektrums mit Natriumacetat besitzt daher für die Stellung einer freien Hydroxylgruppe am C (7) nur eine begrenzte Aussagekraft. 5-Hydroxyflavone und 3,5-Dihydroxyflavone geben gelbe Komplexe mit Aluminiumchlorid. Die Komplexbildung äußert sich im UV Spektrum durch bathochrome Verschiebungen der Banden I und II. Liegt ein 5-Hydroxyflavon vor, so wird das Maximum der Bande I durch Hinzufügen von Aluminiumchlorid / Salzsäure um 35 - 55 nm in den langwelligen Bereich verschoben (46). Im vorliegenden Fall wurde die Bande I nach der Zugabe einer alkoholischen Aluminiumchloridlösung zu der Probelösung um 40 nm bathochrom verschoben. Eine Verschiebung unter 20 nm hätte die Gegenwart einer Sauerstofffunktion am C (6) bedeutet.

Für die Methoxygruppe und die zweite Hydroxylgruppe kommen nun noch jeweils die Stellungen am C (7) und am C (8) in Frage. Durch Entmethylierung der Substanz HSL III wurde sie in ein Trihydroxyflavon überführt. Es wurde eine kristalline Verbindung erhalten mit dem Schmelzpunkt $F_p = 254^{\circ} - 256^{\circ} \text{ C}$. Er entspricht dem Schmelzpunkt des Norwogonins, eines 5,7,8-Trihydroxyflavons. Es sind die Verbindungen 5,8-Dihydroxy-7-methoxyflavon und 5,7-Dihydroxy-8-methoxyflavon bekannt.

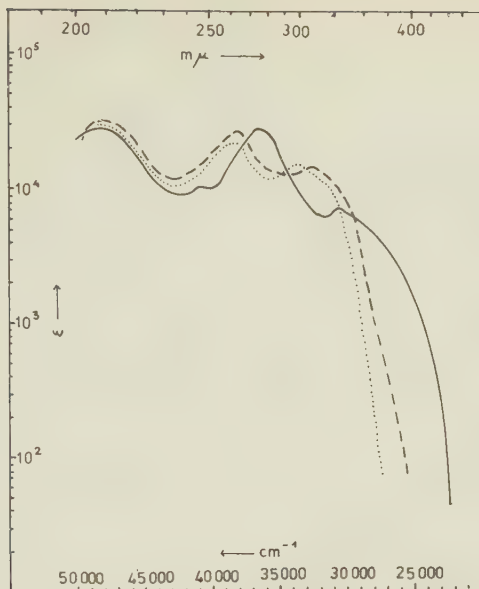


Abb. 46: UV Spektren der Verbindungen HSL III Methyl ———
HSL III Ac II - - - - -
HSL III AC I

Die letztgenannte Verbindung wird auch als Wogonin bezeichnet. Beim Vergleich der IR Spektren des Wogonins mit HSL III fielen erhebliche Unterschiede im 'finger-print' Bereich auf.

Dadurch, daß es gelang, HSL III durch Entmethylierung in Norwogonin zu verwandeln, wurde die Verbindung HSL III als 7-O-Methylnorwogonin identifiziert. Sie wurde von POPOVA (88) 1972 zum ersten Mal aus *Scutellaria baicalensis* isoliert.

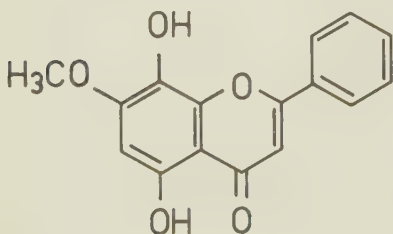


Abb. 47: 7-O-Methylnorwogonin

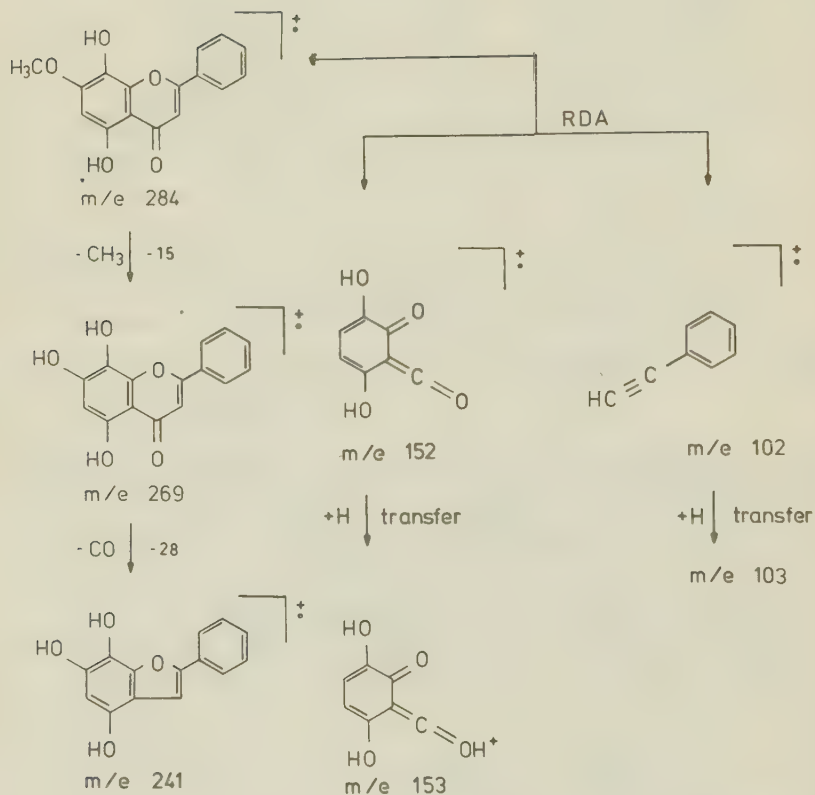


Abb. 48: Massenspektrum der Verbindung HSL III
einige wichtige Fragmentierungswege

4. EXPERIMENTELLER TEIL

4.1 Allgemeine Angaben

Für die Beschaffung des Materials von *Holmskioldia sanguinea* Retz. (oberirdische Pflanzenteile) danke ich Herrn Dr. H. Santapau, Director of the Botanical Survey of India. Für die taxonomische Bestimmung danke ich Herrn Anantaswany Rau.

Herkunft: United Provinces (Indien)

Zeit : Ende 1967

Ein Herbarexemplar befindet sich am Institut für Pharmazeutische Biologie der Universität Freiburg.

Für die Beschaffung des Materials von *Holmskioldia Tettensis* Klotz. (Blätter und Zweige) danke ich Mrs. M.H. Schutte.

Herkunft: Department of Agricultural Technical Services

Botanical Research Institute

590 Vermeulen Street

Pretoria, Republic of South Africa

Von *Gmelina arborea* wurden oberirdische Pflanzenteile untersucht.

Herkunft: Ganges-Delta von West-Bengalen, Indien

Zeit : Juli 1974

Ein Belegexemplar befindet sich am Institut für Pharmazeutische Biologie der Universität Freiburg.

Für die Beschaffung des Materials von *Premna integrifolia* L. (oberirdische Pflanzenteile) danke ich Frau Ilona Christiansen, Assistentin am Institut für Pharmakognosie und Phytochemie der Freien Universität Berlin.

Herkunft: Botanical Garden of Paradenia, Kandy (Sri Lanka)

Zeit : Februar 1975

Ein Belegexemplar befindet sich am Institut für Pharmazeutische Biologie der Universität Freiburg.

Zur Dünnschichtchromatographie wurden Alu-DC Fertigplatten F₂₅₄ Merck verwendet. Sie gewährleisten eine gute Reproduzierbarkeit der Werte. Für die Säulenchromatographie gelangten XAD 2 und XAD 7 Servachrom Adsorberharz Korngröße 300 - 1000, Sephadex G 15 Pharmacia Fine Chemicals, Kieselgel Woelm 0,063 - 0,2 mm, Aluminiumoxid neutral Woelm Aktivitätsstufe 0, Celite 545 zur Anwendung. Als Sprühreagens wurde Vanillin / konz. Schwefelsäure 1 % benutzt. Nach dem Ansprühen wurden die Platten für eine kurze Zeit im Trockenschrank bei 100° C erhitzt. Die optimale Farbausbildung wurde nach 2 Minuten beobachtet. Konzentrations- und Verhältnisanangaben bei Laufmitteln zur Chromatographie beziehen sich auf Volumina (v/v).

Die UV Spektren wurden mit einem Zeiss-Spektrophotometer P M Q 2 aufgenommen. Die Lösungen befanden sich in Quarzküvetten von 1,000 cm Schichtdicke. Als Lösungsmittel dienten Wasser und Methanol (Uvasol).

Die IR Spektren wurden mit einem Leitz-Unicam Spektralphotometer SP 200 G an KBr Preßlingen aufgenommen. Die durchschnittliche Konzentration betrug 1,1 mg/150 mg KBr.

Die Kernresonanzspektren wurden mit dem Varian S 60 Spektrometer aufgenommen. Lösungsmittel: D₂O, DMSO, CDCl₃, Tetramethylsilan als innerer Standard. Alle Angaben von ppm sind δ -Werte.

Die FT Protonenresonanzspektren wurden aufgenommen mit dem Varian C F T - 20 NMR Spektrometer.

Die Massenspektren wurden mit einem Massenspektrographen Atlas CH₄ aufgenommen, bei 70 eV und variablen Temperaturen, die jeweils angegeben werden.

Die Bestimmung der optischen Drehung wurde mit dem lichtelektrischen Präzisionspolarimeter 0,005 (Zeiss) durchgeführt.

Die gaschromatographische Analyse wurde mit dem Gerät HP 5710 A des Pharmazeutischen Institutes Berlin ausgeführt.

Säule : 59 Stahl
Träger : Chromosorb GAN DMCS
Stationäre Phase : Äthylenglykolsuccinate
Empfindlichkeit : 8
Temperatur I.P. : 250° C
Oven : 225° C
Papiervorschub : 0,5 / min
Trägergas : rein N₂
Detektor : F, D
Luft : 350 ml/min Vorschub : 1,5 atü
H₂ : 35 ml/min Vordruck : 1,2 atü

Die Schmelzpunktbestimmung erfolgte mit einem Kofler-Heiz-
tisch Mikroskop.

Authentische Proben von Stigmasterol und β -Sitosterol
stammten von der Firma Carl Roth Laborchemikalien, Karlsruhe.

4.2 Iridoide aus Holmskoldia sanguinea Retz.

4.2.1 Isolierung der Verbindungen Hosa III, Hosa II, Hosa I und Hosa o

600 g der getrockneten und mittelfein pulverisierten Gesamtdroge von *Holmskoldia sanguinea* wurden einmal mit 2 l abs. Äthanol und je zweimal mit 1 l 80 % Äthanol für eine halbe Stunde im Luftbad unter Rückfluß gekocht. Die vereinigten Auszüge wurden am Rotationsverdampfer bei 40° C eingeeengt, an 120 g Celite gebunden und zum Trocknen im Vakuum aufbewahrt. Der an Celite gebundene Extrakt wurde auf eine Celitesäule gegeben (80 g Celite). Die Säule wurde mit 3 l Hexan/Methylenchlorid 1 : 1 eluiert. Dieser lipophile Anteil wurde eingeeengt, sein Rückstand (10 g) zur weiteren Untersuchung im Vakuum aufbewahrt. Anschließend wurde mit Methylenchlorid/Methanol 1 : 1 eluiert. Der nach dem Einengen dieser Fraktion verbleibende Rückstand (42 g) wurde in 150 ml eines Methanol/Wasser (20 : 80) Gemisches gelöst und an einer XAD 2 Adsorbentharzsäule (200 g XAD 2) chromatographiert. Das Adsorbens XAD 2 wurde dazu vorher mit absolutem Methanol beginnend bis zum Methanol/Wasser Gemisch 20 : 80 gewaschen. Fraktion A dieses Verfahrens erwies sich als iridoidhaltig und wurde noch einmal einer Vorreinigung mit XAD 7 unterzogen.

1. XAD-Säule (200 g XAD 2)

A	CH ₃ OH/H ₂ O	20:80	11	14,5 g
B	CH ₃ OH/H ₂ O	35:65	11	3,0 g
C	CH ₃ OH/H ₂ O	70:30	11	13,1 g
D	CH ₃ OH	100	11	0,6 g

2. XAD-Säule (150 g XAD 7)

A	H ₂ O	100	10,34 g
B	CH ₃ OH/H ₂ O	5:95	1,76 g
C	CH ₃ OH/H ₂ O	10:90	0,26 g
D	CH ₃ OH/H ₂ O	20:80	0,47 g
E	CH ₃ OH/H ₂ O	100	2,31 g
je 500 ml			

Die Fraktionen B und C der zweiten XAD-Säule enthielten die Iridoidglykoside. Sie wurden an Celite gebunden, getrocknet, dann in Methanol gelöst und an Kieselgel mit Methylenchlorid/Methanol/Wasser (65 : 35 : 3,5) aufgetrennt.

Eine noch nicht dc-einheitliche Fraktion (286 mg) mit dem men-

genmäßig überwiegend vorkommenden Iridoid wurde erneut auf eine Kieselgelsäule mit gleichem Laufmittel gegeben.

Die Verbindung Hosa III, jetzt chromatographisch rein, wurde als Catalpol identifiziert. (Ausbeute 63 mg/o,01 % auf die Menge der Gesamtdroge bezogen)

Durch Verteilungschromatographie an Kieselgelsäulen (Butanol/Methanol/Wasser 4 : 1 : 5 Oberphase) und anschließend durch Gelfiltration wurden die Verbindungen Hosa II (21 mg/o,004%) und Hosa I (29 mg/o,005 %) aufgetrennt und rein erhalten. Die Verbindung Hosa o konnte infolge ihrer starken Hydrophilität als nicht ganz einheitlich dargestellt werden.

4.2.2

Eigenschaften der Verbindung Hosa III (Catalpol)

Zusammensetzung: $C_{15}H_{22}O_{10}$

M = 362 (massenspektrometrisch)

Schmelzpunkt: $203^{\circ} - 205^{\circ} C$

Kristallisiert aus reinem Methanol in Form
farbloser Plättchen

UV (H_2O):

$\lambda_{max} = 187,2 \text{ nm } (\epsilon = 10439) \quad \lg \epsilon = 4.642$
 $193 \text{ nm } (\epsilon = 9405) \quad \lg \epsilon = 3.956$

Spezifische Drehung

$[\alpha]_D^{22} = -102^{\circ} (c=0,98 \text{ in } 90\% C_2H_5OH)$

IR:

3500 s, 3450-3000 s, 2930 m, 2890 m, 1710 w, 1650 m, 1455 m,
1375 m, 1330 m, 1310 m, 1270 m, 1230 m, 1150-1000 s, 940 m,
900 m, 840 m, 750 m, 730 m cm^{-1}

NMR (D_2O):

=====

60 MHz TMS=0

6,61-6,49 dd (1 H), 5,35 dd (1 H), 5,28 d (1 H), 4,95 d (1 H),
4,25 dd (1 H), 3,82 d (1 H), 2,78 d (1 H), 2,26-2,24 m (1 H).

MS m/e (% Basispeak) $200^{\circ} C$

=====

Peaks mit der Intensität > 20 % bis zum Massenbereich m/e 110

> 15 % bis zum Massenbereich m/e 200

wurden nur berücksichtigt. 31 (100)

39 (36), 41 (51,5), 43 (91,5), 44 (57), 45 (77), 53 (35),
55 (50), 56 (26,6), 57 (90), 60 (73,3), 61 (86,6), 71 (43,3),
73 (96,6), 74 (21,6), 77 (41,6), 79 (46,6), 81 (85), 85 (95),
87 (58,3), 91 (66,6), 95 (25), 97 (50), 98 (31,6), 99 (31,6),
103 (20), 107 (40), 109 (21), 118 (16,6), 119 (50), 120 (16,6),
123 (30), 127 (31,6), 135 (46,6), 136 (33,3), 137 (28,1),
145 (35), 147 (16,6), 151 (16,6), 153 (18,3), 162 (15),
164 (51,6), 165 (33,3), 182 (26,6), 183 (21,6), 200 (20) M^{+}

Der Vergleich des IR Spektrums von Hosa III mit dem Spektrum des authentischen Catalpols ergab Übereinstimmung in allen Einzelheiten. Die NMR- und UV-Spektren waren identisch. In den Massenspektren wurden die gleichen Bruchstücke beobachtet.

Acetylierung der Verbindung Hosa III

Allgemeine Acetylierungsvorschrift:

30 mg Substanz wurden in 1,5 ml Pyridin gelöst, mit 1,5 ml wasserfreiem Acetanhydrid versetzt und 24 Stunden bei Raumtemperatur stehen gelassen. Das Gemisch wurde danach auf Eis gegossen und mit Äther ausgeschüttelt. Die ätherische Phase wurde nacheinander mit 0,1 n HCl, gesättigter NaHCO_3 -Lösung und Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum bis zur Trockne eingeengt. Der Rückstand ließ sich durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit Toluol/Aceton 80 : 20 trennen.

Bei der Acetylierung von 100 mg Substanz Hosa III wurde ein Acetylierungsprodukt erhalten mit der Ausbeute von 60 mg (60 %).

4.2.3

Eigenschaften der Verbindung Hosa III Ac (Catalpolhexaacetat)

Zusammensetzung: $C_{27} H_{34} O_{16}$

M = 614 (massenspektrometrisch)

Schmelzpunkt: $139^{\circ} C$

Kristallisiert in feinen Nadeln aus C_2H_5OH

IR:

3600-3300 w, 2960 m, 2845 w, 1740 s, 1650 m, 1430 m, 1370 m, 1360 m, 1250-1220 s, 1140 m, 1120 m, 1070 s, 1030 s, 980 m, 960 m, 950 w, 910 m, 860 w, 790 w, 760 w, 740 w, 690 w, 670 w, 660 w cm^{-1} .

NMR (CDCl₃)

=====3
6,36 dd (1 H), 5,01 breites s (1 H), 4,75 d (1 H) J = 13 Hz, 4,00 d (1 H), 3,69 d (1 H) J = 1,5 Hz, 2,76 d (1 H) J = 1,5 Hz, 2,59 m (1 H) ppm.

MS m/e (% Basispeak) $120^{\circ} C$

=====4
43 (100), 55 (2,4), 57 (2,9), 60 (5,1), 69 (2,4), 71 (2,9), 73 (2,7), 81 (7,9), 85 (3,1), 97 (5,8), 98 (3,6), 103 (3,1), 109 (40,8), 110 (3,3), 115 (6), 119 (4,6), 127 (11,8), 139 (4,3), 145 (5), 147 (6,3), 109 (63), 187 (0,12), 195 (0,1), 207 (2,6), 211 (3,4), 223 (0,05), 229 (0,1), 267 (0,05), 271 (4,1), 331 (10,8) cm^{-1} .

Der Vergleich des IR Spektrums von Hosa III hexaacetat mit dem Spektrum des authentischen Catalpolhexaacetats ergab volle Übereinstimmung. Die Mischschmelzpunkte zeigten keine Depression.

Verbindung	x) Rf-Wert	Schmelzpunkt	Ausbeute	Mischschmelzpt.
Hosa III	0,34	$139^{\circ} C$	60 %	$138^{\circ}-140^{\circ} C$
Catalpol-hexaacetat	0,34	$140^{\circ} C$		

x) Fließmittel: Toluol/Aceton 80 : 20

4.2.4

IR Spektren der Verbindungen Hosa II, Hosa I und Hosa o
Farblose, amorphe Substanzen, keine Absorption über 200 nm.

Hosa II

3700-3300 s, 2950 m, 2915 s, 2845 m, 1735 w, 1630 w, 1590 w,
1450 m, 1350 m, 1250-1210 m, 1120-930 s, 880 w, 765 m cm^{-1} .

Hosa I

3700-3300 s, 2950 m, 2920 m, 2850 m, 1640 m, 1540 m, 1450 m,
1420-1360 m, 1350 m, 1300 m, 1250 m, 1210 m, 1190-930 s,
870 m, 790-750 m cm^{-1} .

Hosa o

3700-3000 s, 2930 m, 2850 m, 1710 w, 1630 m, 1400 m,
1250 m, 1220 m, 1100 s, 1035 s, 985 s, 915 m, 860 w cm^{-1} .

4.3 Iridoide aus Premna integrifolia L.

4.3.1 Isolierung der Verbindungen Prem IV, Prem III, Prem II und Prem I

Das Pflanzenmaterial (20 g) von Premna ⁿintegrifolia L. wurde, wie in Kapitel 4.2.1 genauer beschrieben, mit Äthanol extrahiert. 5,3 g Gesamtextrakt ließen sich anschließend in einen hydrophilen (3,6 g) und einen lipophilen Anteil (0,9 g) trennen. Nach der Vorreinigung mit XAD 2 wurden die Verbindungen Prem IV, Prem III, Prem II und Prem I durch säulenchromatographische Trennung rein dargestellt.

4.3.2 Eigenschaften der Verbindung Prem III (Catalpol)

Zusammensetzung: $C_{15} H_{22} O_{10}$

Molekulargewicht : 362 (massenspektrometrisch)

IR

3650-3000 s, 2930 m, 1710 m, 1650 m, 1480-1300 s, 1270 m, 1230 m, 1150-1000 s, 940 w, 900 w, 810 m, 770 m cm^{-1} .

Das IR Spektrum von Prem III war mit dem IR Spektrum von Catalpol identisch.

MS (200° C)

31 (100), 39 (17), 41 (28), 43 (80), 44 (60), 45 (49), 55 (30), 56 (23,8), 57 (77,7), 60 (63,4), 61 (92), 69 (25,3), 71 (34,9), 72 (31), 73 (76), 74 (31,7), 77 (15,8), 81 (15), 85 (63), 86 (25,3), 87 (19), 91 (22,2), 97 (17,4), 101 (19), 102 (15,7), 103 (38), 115 (12), 119 (14), 123 (6,3), 126 (7,9), 127 (7,9), 131 (11,1), 133 (7,9), 137 (8), 130 (7,9), 144 (11,1), 145 (6,3), 149 (25,3), 155 (14,2), 162 (3), 163 (2,9), 165 (2,8), 182 (3,2), 183 (2,3), 185 (3,1), 200 (3,2) M⁺ des Aglykons

Die Massenspektren von Prem III und Catalpol waren gleich. Damit wurde die Verbindung Prem III als Catalpol identifiziert.

4.3.3 IR Spektren der Verbindungen Prem IV, Prem II
und Prem I

Alle drei Substanzen wurden als farblose Lacke erhalten und zeigten keine Absorption oberhalb von 210 nm.

Prem IV

3650-3000 s, 2950 s, 2920 s, 2850 s, 1720 m, 1710-1660 s,
1590 s, 1500 m, 1450 m, 1430 m, 1370 s, 1310-1210 s,
1190-1130 s, 1110-1050 s, 1030-930 s, 830 m, 760 m,
680 m cm^{-1} .

Prem II

3700-3300 s, 2950 m, 2920 s, 2850 m, 1720 m, 1650 m,
1640-1570 m, 1550 m, 1530 m, 1500 m, 1400 m, 1370 m,
1270-1180 m, 1160-930 s, 760 w, 680 m cm^{-1} .

Prem I

3700-3300 s, 2950 m, 2920 s, 2850 m, 1720 w, 1685-1670 s,
1630 s, 1620 s, 1590 s, 1500 m, 1450 m, 1430 m, 1400-1330 s,
1310-1200 s, 1150 s, 1120-930 s, 790 w cm^{-1} .

4.4 Iridoide aus Holmskioldia tettensis Klotz.

4.4.1 Isolierung und Acetylierung der Verbindungen

Hote I (Harpagid) und Hote II (8-O-Acetylharpagid)

150 g gepulvertes und getrocknetes Pflanzenmaterial wurden einmal mit 600 ml reinem Äthanol und zweimal mit je 600 ml 80 %igem Äthanol je 30 Minuten unter Rückfluß gekocht. Die alkoholischen Auszüge wurden im Vakuum eingeeengt, der Rückstand an Celite gebunden und im Exsikator 24 Stunden zum Trocknen aufbewahrt. Daraufhin wurde der Extrakt auf eine Celitesäule (50 g Celite) gegeben und erst mit 1 l Hexan/Methylenchlorid 1 : 1 eluiert. Der Rückstand (15 g) dieses Eluats wurde in Wasser gelöst, mit Celite verrieben, getrocknet und an einer Aluminiumoxidsäule (150 g Al_2O_3 Woelm neutral) mit Wasser chromatographiert. Der an Celite gebundene Rückstand dieses Eluats wurde nach dem Trocknen auf eine Kieselgelsäule gegeben. Als Laufmittel diente Methylenchlorid/Methanol/Wasser 75 : 25 : 2,5. Von den vier Fraktionen wurden die Teile A und C verworfen, Fraktion B (Hote II 280 mg/o, 19 %) und D (Hote I 508,3 mg o, 34 %) erwiesen sich als iridoidhaltig. Die beiden chromatographisch nicht ganz reinen Fraktionen B und D wurden nach dem allgemeinen Verfahren acetyliert. Aus der Acetatfraktion von B wurden zwei Reaktionsprodukte erhalten. Das lipophilere Acetat wurde nach chromatographischer Abtrennung an einer Kieselgelsäule und dem Laufmittel Toluol/Aceton 80 : 20 kristallisiert (25,3 mg). Sein Schmelzpunkt lag bei 213-215^o C. Die Acetatfraktion von D ergab 69 mg reines Hote I Acetat.

IR Spektrum der Verbindung Hote I Ac II

3540 m, 3460 w, 3015 w, 3000 w, 2960 w, 1755 s, 1745 s, 1730 s, 1655 m, 1430 m, 1410 m, 1330 s, 1325 m, 1310-1180 s, 1170 m, 1105 s, 1090-1000 s, 990 m, 960 m, 920 m, 860 w, 785 w cm^{-1} .

Das IR Spektrum von Hote I Ac II war identisch mit den IR Spektren der Verbindungen Hote II Ac und Harpagidhexaacetat. Damit wurden die Verbindungen Hote I als Harpagid und Hote II als 8-O-Acetylharpagid identifiziert.

4.5 Chromatographische Untersuchung von Gmelina arborea L.

Oberirdische Pflanzenteile (Gesamtmenge 20 g) von Gmelina arborea L. wurden nach dem in Kap. 4.2.1 beschriebenen Verfahren extrahiert. Nach einer Trennung des Gesamtextraktes (7,19 g) in einen lipophilen (1,0 g) und einen hydrophilen Anteil (2,8 g) wurde eine Vorreinigung des wasserlöslichen Anteils mit XAD 2 vorgenommen. Die erhaltenen vier Fraktionen des hydrophilen Extraktes wurden in den verschiedenen Fließmittelsystemen der Tab. 6 dünnschichtchromatographisch untersucht. Es konnten keine Iridoidglykoside festgestellt werden.

4.6 Steroide aus Holmskioldia sanguinea Retz.

4.6.1 Isolierung der Verbindung HSL II und der Verbindung HSL III

Der aus der Vortrennung gewonnene lipophile Extrakt (9,8 g) von Holmskioldia sanguinea Retz. wurde an Kieselgel mit dem Laufmittel Chloroform/n-Propanol 95 : 5 chromatographiert. Es ergab sich dabei unter anderem eine Fraktion (2,8 g), in der sich die Verbindungen mit den Arbeitsbezeichnungen HSL II und HSL III nachweisen ließen. Sie wurden mittels einer Aluminiumoxidsäule und dem Laufmittel Toluol/Methanol 70 : 30 voneinander getrennt. Die Verbindung HSL III, chromatographisch im sichtbaren Licht als gelber Substanzfleck erkennbar und fluoreszenzlöschend, drang nicht in das Adsorbens Al_2O_3 neutral ein und konnte leicht als breiter Ring von der übrigen Säulenfüllung abgetrennt werden. Durch mehrmalige Kristallisation aus Chloroform/Äthanol 1 : 1 konnten 680 mg (0,11 %) von HSL III rein dargestellt werden.

Nach dem Reinigen an zwei weiteren Säulen mit Kieselgel als Adsorbens und Cyclohexan/Essigester 65 : 35 als mobile Phase wurden 70 mg der Verbindung HSL II (0,012 %) gewonnen. Sie kristallisierte in Nadeln aus Äthanol/Chloroform 1 : 0,05.

4.6.2 Eigenschaften der Verbindung HSL II (Gemisch von Stigmasterol und β -Sitosterol)

Zusammensetzung: $C_{29}H_{50}O$

$C_{29}H_{48}O$

Molekulargewicht: 414 (massenspektrometrisch)

412 (Massenspektrometrisch)

Schmelzpunkt : $165^{\circ} - 168^{\circ} C$

IR

3650-3000 m breite chelatisierende OH-Bande

2950 s, 2920 s, 2865 s, 1650 w, 1620 w, 1460 m, 1450 m, 1430 m, 1370 m, 1360 m, 1325 w, 1290 w, 1245 w, 1205 w, 1190 w, 1145 w, 1130 w, 1090 w, 1040 m, 1030 m, 1010 w, 960 m, 930 w, 860 w, 840 w, 820 w, 790 w, 770 w, 720 w cm^{-1} .

MS m/e (% Basispeak): $35^{\circ} C$

=====

74 (34), 76 (o), 78 (37), 85 (47), 87 (4o), 89 (47), 99 (5o), 101 (53), 103 (28), 121 (5o), 123 (28), 133 (34), 135 (44), 147 (4o), 149 (5o), 161 (4o), 163 (37), 175 (25), 177 (21), 186 (21), 188 (16), 200 (18), 202 (21), 214 (4o), 216 (19), 230 (4o), 232 (34), 247 (37), 256 (72), 258 (21), 269 (31), 271 (100), 273 (56), 300 (3o), 301 (12,5), 303 (3), 315 (1), 316 (4), 327 (4), 329 (1), 351 (16), 367 (6), 369 (34), 379 (6), 381 (4,7), 394 (6,2), 396 (3,1), 397 (28), 399 (9,4), 412 (66), 414 (28,1).

Gaschromatogramm

=====

Substanz	Entfernung d.Max. vom Start	Retentionszeit
HSL II	15,4 und 17,8 cm	7,7 u.8,9 min
Stigmasterol	15,4 cm	7,7 min
β -Sitosterol	17,8 cm	8,9 min

Die IR- und Massenspektren der Verbindung HSL II und den authentischen Vergleichssubstanzen Stigmasterol und β -Sitosterol wiesen keine Unterschiede aus. Auch durch das Gaschromatogramm konnte die Verbindung HSL II eindeutig als ein Gemisch von Stigmasterol und β -Sitosterol identifiziert werden.

4.7 Flavon aus Holmskioldia sanguinea Retz.

4.7.1 Isolierung der Verbindung HSL III

Die Isolierung der Verbindung HSL III wird im Kap. 4.6.1 ausführlich beschrieben.

4.7.2 Eigenschaften der Verbindung HSL III (7-O-Methylnorwogonin)

Zusammensetzung : $C_{16}H_{12}O_5$

Molekulargewicht: 284 (massenspektroskopisch)

Schmelzpunkt : 198 - 200^o C

UV (0,142 mg/10 ml CH_3OH Uvasol Merck)

λ_{max} = 208 nm (ϵ = 28 400)
248 nm (ϵ = 10 420)
275 nm (ϵ = 28 400)
340 nm (ϵ = 7 780)

a) UV + Na-acetat gesättigt (c = 5,0 g wasserfreies Na-acetat/100 ml Methanol)

Es wurden 1 ml der Reagenzlösung mit 2 ml der Stammlösung des Flavons (0,142/10 ml CH_3OH) auf 10 ml verdünnt und nach 10 Min. gemessen.

λ_{max} = 205 nm
275 nm
340 nm

b) UV + Aluminiumchlorid (c = 2,5 g Aluminiumchlorid/100 ml Methanol)

Es wurden 2 ml der Reagenzlösung und 2 ml der Stammlösung siehe unter a) - gemischt, auf 10 ml aufgefüllt und nach 10 Min. gemessen.

λ_{max} = 236 nm $\Delta\lambda_{max}$ 28 nm
293 nm $\Delta\lambda_{max}$ 18 nm
380 nm $\Delta\lambda_{max}$ 40 nm

Die von POPOVA (88) angegebenen Absorptionsmaxima des UV Spektrums von 7-O-Methylnorwogonin stimmen mit den Absorptionsmaxima des UV Spektrums der Verbindung HSL III überein.

IR

3600-3300 m, 3300-3000 s, 2940 s, 2830 m, 2660 m, 1645 s, 1600 s, 1565 s, 1490 s, 1435 s, 1400 s, 1370 s, 1335 s, 1310 s, 1290 s, 1260 s, 1280 s, 1240 s, 1200 s, 1150 s, 1090 m, 1015 s, 970 w, 935 m, 835 m, 775 m, 750 m, 720 m, 680 m, 655 m cm^{-1} .

MS (100° C)

69 (50), 77 (27), 83 (20), 85 (14), 93 (17), 95 (4,8), 97 (3,2), 102 (37), 103 (33), 105 (11), 111 (45), 115 (14,5), 125 (6,4), 127 (6,4), 128 (8), 129 (6,5), 130 (6,4), 139 (80), 140 (14), 153 (16), 167 (33,8), 168 (4,8), 171 (4,8), 211 (3,2), 212 (1,6), 241 (66), 242 (24), 254 (11), 269 (100), 270 (45), 271 (9), 284 (66) M^+ .

Metastabile Peaks: m^* 254,79 (284 $\rightarrow$ 269)
 m^* 215,91 (269 $\rightarrow$ 241)

NMR (DMSO)

12,6 (1 H austauschbar mit D_2O), 10,8 m (1 H austauschbar mit D_2O), 8,2 m (2 H), 7,7 m (3 H), 7,0 s (1 H), 6,41 s (1 H), 4,0 s (3 H) ppm.

4.7.3 Methylierung der Verbindung HSL III

1,07 g TolyI-sulfonyl-N-methylnitrosamid wurden in 15 ml Äther gelöst. Die eisgekühlte Lösung wurde langsam mit 5 ml 4 %iger KOH (in 90 % CH_3OH) versetzt. Nach 5 Min. wurde das gebildete Diazomethan auf dem Wasserbad vorsichtig in eine Vorlage mit 30 ml wasserfreiem, eisgekühltem Äther abdestilliert.

25 ml dieser ätherischen Diazomethanolösung wurden mit 30 ml eines wasserfreien Aceton/Äther (5 : 25) Gemisches, in dem sich 200 mg HSL III gelöst befanden, vereinigt und 5 Stunden im Kùhlschrank aufbewahrt. Danach wurde das Lösungsmittel abdestilliert und der als Rückstand verbliebene Niederschlag aus 90 % CH_3OH kristallisiert. Das Chromatogramm mit Benzol/Essigester 70 : 30 als Fließmittel zeigte ein Methylierungsprodukt.

Eigenschaften der Verbindung HSL III Methyl.

Zusammensetzung : $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_5$

Molekulargewicht: 298 (massenspektrometrisch)

Schmelzpunkt : $179^\circ - 180^\circ \text{C}$

Kristallisiert aus 90 % CH_3OH

UV Methanol (Uvasol Merck)

λ_{max} = 205 nm (ϵ = 28 400)

275 nm (ϵ = 28 400)

340 nm (ϵ = 7 780)

IR

3500-3300 w, 3060 w, 2960-2990 w, 2935 w, 2845 w, 2725 w, 1650-1635 s, 1595-1580 s, 1500 m, 1440 s, 1400 m, 1370 s, 1330 s, 1265 s, 1220 s, 1200 m, 1180 w, 1160 w, 1150 w, 1110 s, 1020 m, 1010 m, 960 w, 930 w, 830 m, 805 m, 760 m, 730 w, 680 m, 660 m cm^{-1} .

MS 180°C

43 (100), 44 (25), 58 (98), 69 (22), 77 (14,8), 83 (~ 4), 91 (5,5), 102 (14,8), 103 (9,2), 105 (8,3), 110 (5,5), 115 (4,6), 125 (16), 153 (38,3), 181 (18,5), 207 (5,5), 225 (1,8), 227 (1,8), 253 (3,7), 255 (9,2), 269 (3,7), 270 (1,8), 283 (83,3), 284 (18,5), 298 (29,6).

NMR (CDCl₃)

=====

11,6 s (1 H austauschbar mit D₂O), 8 m (2 H), 7,6 m (3 H),
6,7 s (1 H), 6,5 s (1 H), 4,0 s (1 H) ppm.

4.7.4 Acetylierung der Verbindung HSL III

Die Acetylierung der Verbindung HSL III wurde nach dem auf S. 71 beschriebenen Verfahren durchgeführt. 200 mg HSL III ergaben nach der Acetylierung ein Gemisch von 160 mg Substanz bestehend aus dem Mono- und dem Diacetat. Beide Reaktionsprodukte wurden an Kieselgel mit Toluol/Aceton 80 : 20 säulenchromatographisch getrennt. Beide Acetate kristallisierten aus reinem Äthanol.

Verbindung	Molekulargewicht	Schmelzpunkt	Ausbeute auf 200 mg	Rf-Wert Tol/Ac 80 : 20
HSL III Ac II	326	195°-196° C	40 mg/20%	0,27
HSL III Ac I	368	146° C	80 mg/40%	0,48

Eigen schaften der Verbindung HSL III Ac II

Zusammensetzung : $C_{18}H_{14}O_6$

Molekulargewicht: 326 (massenspektrometrisch)

Schmelzpunkt : 195° - 196° C

UV Methanol (Uvasol Merck)

$\lambda_{\max} = 212 \text{ nm}$ $\Delta \lambda_{\max} = 4 \text{ nm}$ ($\epsilon = 33 \text{ 600}$)
 262 nm $\Delta \lambda_{\max} = 13 \text{ nm}$ ($\epsilon = 27 \text{ 200}$)
 308 nm $\Delta \lambda_{\max} = 32 \text{ nm}$ ($\epsilon = 15 \text{ 400}$)

IR

3500-3300 w, 3300-3000 m, 2920 m, 2890 m, 1800 w, 1750 s, 1620 s, 1610 s, 1580 s, 1555 s, 1490 m, 1440 m, 1420 m, 1355 s, 1310 s, 1300 m, 1270 w, 1230 s, 1205 s, 1185 s, 1155 s, 1080 s, 1010 s, 970 m, 930 m, 895 m, 840 m, 775 w, 760 m, 735 w, 710 w, 670 m, 650 m, 640 m cm^{-1} .

MS 100° C

43 (21,7), 51 (7,2), 55 (8,6), 57 (14,5), 69 (24,6), 71 (10,1), 77 (11,5), 83 (5,7), 85 (7,2), 91 (7,2), 93 (4,3), 102 (14,5), 103 (13), 105 (8,6), 111 (10,1), 115 (7,2), 139 (50,7), 140 (4,3), 149 (8,6), 153 (8,6), 167 (10,1), 212 (2,9), 241 (39,1), 242 (7,2), 255 (7,2), 269 (100), 270 (27,5), 284 (53,6), 285 (10,1), 326 (7,2) cm^{-1} .

NMR (DMSO)

7,85 m (2 H), 7,45 m (3 H), 6,65 s (1 H), 6,53 s (1 H),
3,85 s (2 H), 3,32-3,4 m (2 H), 2,15 (3 H) ppm.

Eigenschaften der Verbindung HSL III AC I

Zusammensetzung : $C_{20}H_{16}O_7$

Molekulargewicht: 368 (massenspektrometrisch)

Schmelzpunkt : 146° C

UV: Methanol (Uvasol Merck)

$\lambda_{\max}$ = 205 nm	$\Delta\lambda_{\max}$ = -	(ϵ = 32 000)
260 nm	$\Delta\lambda_{\max}$ = 15 nm	(ϵ = 22 600)
297 nm	$\Delta\lambda_{\max}$ = 43 nm	(ϵ = 16 500)

IR

3500-3200 w, 3060 w, 2950 w, 2925 w, 2840 w, 2825 w, 1760 s,
1740 s, 1630 s, 1595 s, 1560 m, 1480 m, 1440 m, 1400 m, 1350 s,
1330 s, 1290 m, 1260 m, 1185 s, 1140 m, 1085 m, 1070 s, 1010 s,
970 m, 930 m, 895 m, 870 w, 840 m, 760 m, 670 m, 640 m cm^{-1} .

MS 100° C

43 (43,3), 52 (3,7), 53 (5,6), 69 (18), 77 (7,5), 93 (3,7),
102 (15), 105 (5,6), 111 (5,6), 115 (3,7), 125 (3,7),
139 (28,3), 153 (15), 167 (7,5), 212 (3,7), 226 (1,8),
241 (17), 255 (13,2), 256 (3,7), 269 (100), 270 (22,6),
288 (56,6), 289 (11,3), 326 (40,5), 327 (11,3), 368 (4,7).

NMR (DMSO)

7,85 m (2 H), 7,45 m (3 H), 6,9 s (1 H), 6,7 s (1 H),
3,9 s (3 H), 3,25 s (3 H), 2,2 d (3 H) ppm.

4.7.5 Entmethylierung der Verbindung HSL III (Norwogonin)

200 mg Substanz HSL III wurden in 2 g Pyridiniumchlorid gelöst und für 50 Minuten auf 180° - 190° C unter Rückfluß erhitzt. Nach dem Abkühlen der Lösung wurde die zehnfache Menge Wasser hinzugefügt. Der entstandene Niederschlag wurde abgenutzt^{sch} und aus Methanol kristallisiert. Der Schmelzpunkt der Substanz betrug 254° - 256° C. Die entmethylierte Verbindung HSL III zeigte den gleichen Schmelzbereich wie ihn POPOVA (55) für das Trihydroxyflavon Norwogonin angab.

Die Verbindung HSL III wurde damit als das 7-O-Methylnorwogonin identifiziert.

5. DISKUSSION

In der vorliegenden Arbeit wurden vier Pflanzen, die zu der Verbenaceen-Unterfamilie der Viticoideae gehören, zum ersten Mal untersucht. Es sollte damit geprüft werden, ob sich auch chemotaxonomische Argumente für die nach morphologischen Gesichtspunkten erfolgte Zusammenfassung der Viticoideae mit einem Teil der Lamiaceae als Gruppe 790 (siehe Tab. 1) durch EL GAZZAR und WATSON (22) finden lassen. Verbindungen aus drei verschiedenen Stoffklassen konnten aus den Pflanzen der Gattungen *Holmskioldia* und *Premna* isoliert werden, nämlich Iridoide, Steroide und ein Flavon.

Für die chemotaxonomischen Betrachtungen sind besonders die Iridoide von Interesse (siehe Tab. 8).

Tab. 8 Iridoide aus *Holmskioldia sanguinea* Retz., *Holmskioldia tettensis* Klotz. und *Premna integrifolia* L.

Iridoide	Rf-Wert	Farbe	Ho tetten.	Ho sang.	Prem. integr.
Catalpol	0,39 (1)	braun	-	+	+
Hosa II	0,32 (1)	braun	-	+	-
Hosa I					
Prem II	0,28 (1)	rosa	-	+	+
Hosa o	0,18 (1)	rosa	-	+	-
Prem IV	0,45 (1)	rosa	-	-	+
Prem I	0,14 (1)	rosa	-	-	+
Harpagid	0,20 (2)	rotbraun	+	-	-
Acetyl- harpagid	0,36 (2)	rotbraun	+	-	-

Fließmittel: Methylenchlorid/Methanol/Wasser

(1) 65 : 35 : 3,5

(2) 70 : 30 : 3

Auffallend ist die Übereinstimmung in der Iridoidakkumulation von *Holmskioldia sanguinea* Retz. und *Premna integrifolia* L. Besonders wenn man sie mit den deutlichen Unterschieden

zwischen den beiden Holmskioldia-Arten vergleicht (Abb. 47).

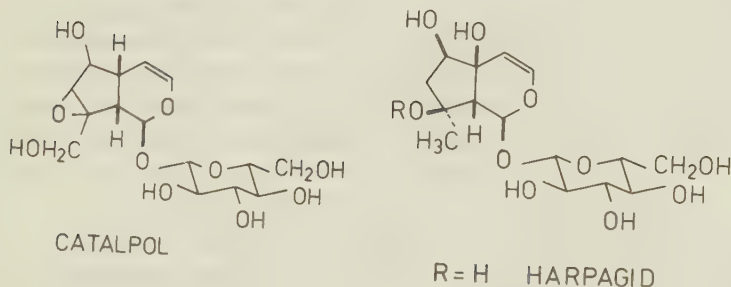


Abb. 47 Catalpol

Harpagid

Diese Befunde lassen vermuten, daß die Gattung Holmskioldia nicht homogen ist und daß ein Teil der Holmskioldia-Arten näher mit einigen Premna-Arten verwandt ist als mit den übrigen Holmskioldia-Arten.

Catapol wird von JENSEN (35) den Iridoiden des 'Aucubin-Typs' zugeordnet, der häufig in der Gruppe 790 anzutreffen ist (siehe Tab. 4). Die aus Holmskioldia tettensis Klotz. isolierten Iridioide vom 'Harpagid-Typ' kommen ebenfalls bei vielen Vertretern der Gruppe 790 vor. Insofern steht das Iridoidmuster im Einklang mit ihrer Einordnung nach EL GAZZAR und WATSON. Die Gruppe 790 wird von ihnen allerdings noch in die Untergruppen 779 und 782 unterteilt. Die Gruppe 779 ist im wesentlichen durch Iridioide des 'Harpagid-Typs' charakterisiert (40), lediglich in den Gattungen Melittis, Prasium, Premna und Holmskioldia kommen Iridioide des 'Aucubin-Typs' vor. In der Gruppe 782 werden aber teils aucubinartige Iridioide (in der Gattung Vitex) (38, 89, 60, 61), teils Harpagidderivate (in der Gattung Caryopteris) (62) akkumuliert. In den Gattungen Clerodendrum und Callicarpa aus der Gruppe 782 und Gmelina aus der Gruppe 779 konnten bislang keine Iridioide gefunden werden (63). Die Iridoidführung, soweit sie bisher bekannt ist, liefert also keine

Argumente für eine Unterteilung der Gruppe 79o in Untergruppen, wie sie EL GAZZAR und WATSON vorgenommen haben. Allenfalls könnte man an eine Unterteilung in drei Gruppen denken, die durch die Akkumulation von Iridoiden des 'Harpagid-Typs' bzw. des 'Aucubin-Typs' bzw. durch das Fehlen der Akkumulation von Iridoiden charakterisiert wären. Dabei könnten Gattungen, die wie z.B. *Melittis* beide Iridoidtypen akkumulieren, eine Übergangsstellung einnehmen. Um festzustellen, ob diese Spekulation richtig ist, müssen allerdings noch sehr viel mehr Arten als bisher auf ihre Iridoidführung untersucht werden.

Die aus *Holmskioldia sanguinea* Retz. isolierten Steroide Stigmasterol und β -Sitosterol sind als chemotaxonomisches Merkmal nicht verwertbar, da sie in fast allen höheren Pflanzen vorkommen.

In den Lamiaceae und Verbenaceae kommen wie auch in den anderen hochspezialisierten Familien häufig Flavone mit einer zusätzlichen Sauerstofffunktion am C (6) vor (5,6,7 Trihydroxyflavone und deren Derivate) (46). Seltener findet man auch Flavone mit einer zusätzlichen Sauerstofffunktion am C (8) (5,7,8 Trihydroxyflavone und deren Derivate). Das aus *Holmskioldia sanguinea* Retz. isolierte 7-O-Methylnorwogonin gehört diesem selteneren Typ an. Die gleiche Verbindung kommt in *Scutellaria baicalensis* L. vor (55). Ähnliche Verbindungen finden sich auch in anderen *Scutellaria*-Arten, die nach EL GAZZAR und WATSON in die Gruppe A III des Verbenaceen-Lamiaceen Komplexes gehören.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Die vier Arten *Holmskioldia sanguinea* Retz., *Holmskioldia tettensis* Klotz., *Premna integrifolia* L. und *Gmelina arborea* L. wurden auf ihren Iridoidgehalt geprüft. Die Äthanolextrakte der Pflanzen wurden nach der Vorreinigung über XAD-Adsorbentharz durch Chromatographie an Kieselgel mit Methylenchlorid/Methanol/Wasser in einheitliche Fraktionen aufgetrennt. Dabei gelang es, das bei *Holmskioldia sanguinea* Retz. und *Premna integrifolia* L. am stärksten vertretene Iridoid zu isolieren und als Catalpol zu identifizieren. In beiden Pflanzen konnten jeweils drei weitere iridoide Verbindungen nachgewiesen werden. Aus *Holmskioldia tettensis* Klotz. wurden zwei Iridoide isoliert und als Harpagid und 8-O-Acetylharpagid identifiziert. Im Äthanolextrakt von *Gmelina arborea* L. wurden keine Iridoide gefunden. Der lipophile Extrakt von *Holmskioldia sanguinea* Retz. wurde einer näheren Prüfung unterzogen. Aus ihm wurden das Steroidgemisch Stigmasterol und β -Sitosterol, sowie das Flavon 7-O-Methylnorwogonin isoliert.

Die Isolierung und Identifizierung der Iridoide, des Steroidgemisches und des Flavons aus den Gattungen *Holmskioldia* und *Premna* wurde zum Anlaß genommen, die chemosystematische Bedeutung dieser Stoffgruppen zu diskutieren.

7. LITERATURVERZEICHNIS

- (1) S.K. BANERJEE, et al., *Phytochemistry* 8, 515 (1969)
- (2) A.K. BARUA, et al., *J. Ind. Chem. Soc.* 44, 549 (1967)
- (3) N.K. BASU, P.C. DANDIYA, *J. Americ. Pharm. Soc.* 47, 389-391 (1947)
- (4) J. BELCIC, et al., *J. Chem. Soc.* 2523 (1961)
- (5) D.S. BHAKUNI, N.K. KAUL, *J. Sci. Ind. Res. (India)* 20 B, 185 (1961)
- (6) D.S. BHAKUNI, et al., *J. Sci. Ind. Res. (India)* 21 B, 48 (1962)
- (7) A.K. BHATTARCHARJEE, A.K. DAS, *Econ. Botany* 23, 274-276 (1969)
- (8) J.M. BOBBITT, D.W. SPIGGLE, *Tetrahedron Letters* 8, 321-328 (1962)
- (9) J. BRIQUET in Engler u. Prantl, *Die natürlichen Pflanzenfamilien*, IV, 3a, Leipzig (1897)
- (10) H. BUDZIKIEWICZ, C. DJERASSI, D.H. WILLIAMS, *Structure Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry*, Vol II, Holden Day, San Francisco (1964)
- (11) R.C. CAMBIE, *New Zeal. J. Sci.* 2, 230 (1959)
- (12) G.W.K. CAVILL, D.L. FORD, H.D. LOCKLEY, *Austral. J. Chem.* 9, 288 (1956)
- (13) R.N. CHOPRA, S.L. NAYAR, J.C. CHOPRA, *Glossary of Indian Medicinal Plants*, Council of Scientific and Industrial Research, New Delhi p. 203 (1956)
- (14) G.A. CORDELL, *The Biosynthesis of the Indolalkaloids*, *Lloydia* 37, 219-298 (1974)
- (15) T.J. DANIELSON, E.M. HAWES, C.A. BLISS, *CanJ. Chem.* 51, 760 (1973)
- (16) R.B. DUFF, et al., *Biochem. J.* 96, 1 (1965)
- (17) W. DYMOCK, C.J. HOOPER, D. HOOPER, *Pharmacographica Indica* VI, p. 68 London (1893)
- (18) L. FARKAS, M. NOGRADI, et al., *J. Org. Chem.* 21, 3228 (1966)
- (19) L. FARKAS, M. NOGRADI, et al., *Tetrahedron* 23, 3557-3561 (1961)

- (20) S. FAVID, *Tetrahedron* 24, 2421 (1968)
- (21) H.J.M. FITCHES, *Advances in Mass Spectrometry*,
2, 428-439 (1963)
- (22) EL GAZZAR, L. WATSON, *New Phytol.* 69, 451 (1970)
- (23) T.R. GOVINDACHARI, P.C. PARTHASARATHY, *Ind. J. Chem.*,
10, 1120-1122 (1972)
- (24) T.R. GOVINDACHARI, P.C. PARTHASARATHY, *Indian J. Chem.*,
9, 1027 (1971)
- (24a) A.S.R. ANJANEYULU, et al., *Tetrahedron* 31, 1277-1285
(1975)
- (25) G. GRESHOF, *Mededeelingen uit Slands Platentuin*,
25, 156 (1889)
- (26) M. GUIISO, R. MARINE BETTOLO, et al., *Gazz. Chim.*
Ital., 104, 25-33 (1974)
- (27) M. GUIISO, et al., *Gazz. Chim. Ital.* 104, 403-407
(1974)
- (28) R. HÄNSEL, et al., *Phytochemistry*, 4, 19 (1965)
- (29) J.B. HARBORNE, *Comparative Biochemistry of the*
Flavonoids, Academic Press London (1967)
- (30) J.B. HARBORNE, T. SWAIN, *Perspectives in*
Phytochemistry, 1-45 (1969)
- (31) R. HEGNAUER, *Chemotaxonomie der Pflanzen*, 6, Birk-
häuser Verlag Basel und Stuttgart (1973)
- (32) L. HÖRHAMMER, H. WAGNER, *Chemistry of Natural and*
Synthetic Colour Matters (T.S. GORE ed.),
315-330, Academic Press London
- (33) H. INOUE, et al., *Chem. Pharm. Bull.* 20, 1287-1296,
(1974)
- (34) H. INOUE in *Pharmacognosie and Phytochemistry*,
H. WAGNER and L. HÖRHAMMER eds., 290-313, New York
(1971)
- (35) S.R. JENSEN, B.J. NIELSEN, R. DAHLGREN, *Iridoid*
Compounds, Their Occurrence and Systematic Import-
ance in the Angiosperms,
Botaniska Notiser, 128, 148-180 (1975)
- (36) K.C. JOSHI, L.B. SINGH, *Z.f. Naturforschung* 25 b,
693-694 (1970)

- (37) S. JUNELL, *Symb. Bot. Upsal.* 4, 1 (1934)
- (38) Y. KIMURA, M. TAKIDO, *Yakugaku Zasshi*, 37 (11),
1429-1430 (1967)
- (39) B.A. KNIGHTS, *J. Gaschromatographie* 5, 273 (1967)
- (40) P. KOOIMAN, *Act. Bot. Neerl.* 21, 417 (1972)
- (41) P. KOOIMAN, *Act. Bot. Neerl.* 19, 329-340 (1970)
- (42) A. KUKSIS, *Can. J. Biochemistry* 42, 407 (1964)
- (43) K.K. KURUP, P.A. KURUP, *Naturwissenschaften*,
51. Jahrg., 20, 484 (1964)
- (44) H.H. LEE, C. TAU, *J. Chem. Soc.* 2743 (1965)
- (45) T.J. MARBRY, K.R. MARKHAM, M.B. THOMAS,
The systematic Identification of Flavonoids,
Springer Verlag Berlin-Heidelberg-New York (1970)
- (46) T.J. MARBRY, H. MARBRY, J.B. HARBORNE,
The Flavonoids, Capman and Hall London (1975)
- (47) J. MASSICOT, J.P. MARTHE, S. HEITZ, *Bull. Soc. Chim.*
France, 2712-2721 (1963)
- (48) H. MELCHIOR in A. Englers *Syllabus der Pflanzenfamilien*,
2, 12. Auflage, Bornträger Berlin (1964)
- (49) H.N. MOLDENKE, A Resume of the Verbenaceae, Stilbaceae,
Symphoremaceae and Ericaulaceae of the World as
to valid Taxa, *Geogr. Distrib. a Synonymy*, priv.
printed (1959)
- (50) H. MOLISCH, G. GOLDSCHMIEDT, *Sitz.ber. Akad. Wiss.*
Wien, Math.-naturw. Kl. Abt. 1, 110, 185 (1901)
- (51) D.P. MULLAN, *J. Indian Bot. Soc.* 12, 165-179 (1937)
- (52) M. OKIGAWA, H. HATANAKA, et al., *Chem. Pharm. Bull.*
14 (1), 148-142 (1971)
- (53) W.C.H. PETERS, *Naturwissenschaftliche Reise nach*
Moçambique, Georg Reimer Verlag Berlin 1862
- (54) V. PLOUVIER, *Compt. Rend.*, 224, 670 (1947)
- (55) T.P. POPOVA, V.J. LITVINENKO, J.P. KOVALEV,
Khim. Prir. Soedinenii 6, 729-733 (1973) translated
in *Kharkov's Scientific Research of Pharmaceutical*
Chemistry 6, 699-701 (1975)
- (56) D.V. RAO, E.V. RAO, *Indian J. Pharm.* 32, 5, 140-141
(1970)

- (57) D.V. RAO, et al., Sci. Indian Res. 21 B, 313 (1962)
- (58) D.V. RAO, Naturwissenschaften 34, 262 (1965)
- (59) H. RIMPLER, Diss. Berlin (1964)
- (60) H. RIMPLER, Phytochemistry 11, 2653 (1972)
- (61) H. RIMPLER, Arch. d. Pharm. 305, 746 (1972)
- (62) H. RIMPLER, Deut. Apo. Ztg. 113. Jhrg. 39, 1510 (1973)
- (63) H. RIMPLER, et al., unveröffentlicht (1975)
- (64) W. ROXBURGH, Flora Indica 3, 65-66 (1832)
- (65) M. SAYEEDUDDIN, M. MOINUDDIN, Anatomical Study of Holmskioldia sanguinea Retz., J. Indian Bot. Soc. 18, 32-33 (1939)
- (66) M.L. SCARPATI, P. ESPOSITO, Gazz. Chim. Ital. 97, 1209-1230 (1967)
- (67) M.L. SCARPATI, P. ESPOSITO, La ricerca scientifica 37, 10, 840-845 (1967)
- (68) M.L. SCARPATI, et al., Tetrahedron Letters 39, 3439-3443 (1965)
- (69) M.L. SCARPATI, M. GUIZO, L. PANIZZI, Tetrahedron Letters 3439 (1967)
- (70) K.D. SCHAAF, Diss. Berlin (1964)
- (71) J.C. SCHAUER in De Candolle, Prodrum XI
- (72) Sci. Pharm. (Wien) 18, 19 (1950)
- (73) M.K. SEIKEL, et al., Phytochemistry 5, 439 (1966)
- (74) A.B. SEN, S.P. SINGH, Ind. J. Chem. 2, 172 (1964)
- (75) L.M. SIRAIT, et al., Experientia 18, 72 (1962)
- (76) M. SIRAIT, Diss. Berlin (1961)
- (77) M. SPITELLER-FRIEDMANN, G. SPITELLER, J. org. Mass Spectrometry 1, 231 (1968)
- (78) O. STICHER, Helv. Chim. Acta 53, 2010 (1970)
- (79) S.S. SUBRAMANIAN, Phytochemistry 11, 3095-3096 (1972)
- (80) S.S. SUBRAMANIAN, Phytochemistry 12, 1195 (1973)
- (81) S.S. SUBRAMANIAN, Phytochemical Reports, 2078-2079 (1973)
- (82) E. SYDENHAM, Botanical Register 9, 692, London (1823)

- (83) A.R. TRIM, R. HILL, Biochem. J. 50, 310 (1952)
- (84) W. VATKE, Linnaea 43, 536 (1880-1882),
Paul Parey Verlag Berlin
- (85) J.E. WATKINS, C.A. 61, 9769 (1964)
- (86) K. WEINGES, P. KLOSS, W.D. HENKELS, Liebigs Ann.
Chem. 795, 173 (1972)
- (87) J.C. WILLIS, A.K. AIRY SHAW, Dictionary of the
Flowering Plants and Farns, Cambridge (1966)
- (88) E. WINDE, Diss. Berlin (1959)
- (89) E. WINDE, R. HÄNSEL, Archiv der Pharmazie 293, 556
(1960)

LEBENS LAUF

Am 5.7.1947 wurde ich in Berlin als einziger Sohn des Apothekers Joseph Neumann und seiner Ehefrau Erna, geb. Stärke, geboren.

Ostern 1954 wurde ich eingeschult und besuchte die 18. Berliner Grundschule. Nach vierjähriger Grundschulzeit trat ich in das Canisius-Kolleg Gymnasium ein und absolvierte die neun Klassen in der normalen Zeit. Mit dem Abschluß der 13. Klasse erhielt ich 1967 das Zeugnis der Reife.

Meine Praktikantenzeit in der Fichtenberg-Apotheke in Berlin-Steglitz beendete ich mit der pharmazeutischen Vorprüfung am 17.3.1969. April 1969 begann ich mit meinem Studium der Pharmazie an der Freien Universität Berlin. Mein sechssemestriges Studium konnte ich im Frühjahr 1972 mit einem erfolgreich bestandenen Staatsexamen beenden.

Seit dem 1. November 1972 bin ich als freier wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Pharmakognosie und Phytochemie Berlin tätig. Mit der vorliegenden Arbeit bin ich seit dem 1. September 1974 unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. H. Rimpler beschäftigt.

